

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI

**Le succès de recrutement de la moule bleue :
influence de la qualité de la ressource trophique**

Thèse présentée
dans le cadre du programme de doctorat en océanographie
en vue de l'obtention du grade de philosophiae doctor

PAR
© NICOLAS TOUPOINT

Février 2012

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.

Composition du jury :

Philippe Archambault, président du jury, Université du Québec à Rimouski

Réjean Tremblay, directeur de recherche, Université du Québec à Rimouski

Bruno Myrand, codirecteur de recherche, Université du Québec à Rimouski

Frédéric Olivier, codirecteur de recherche, Muséum National d'Histoire Naturelle

Augusto Flores, examinateur externe, Centro de Biologia Marinha

Dépôt initial le 18 novembre 2011

Dépôt final le 17 février 2012

À ma mère, ma famille, ma belle-famille, et mes amis, qui nous ont vu partir de l'autre côté de l'Atlantique, aux Îles de la Madeleine.

À Marjolaine, qui m'a accompagné et soutenu dans cette aventure, et qui m'a donné le plus beau des petits garçons.

À Frédo, Lolo, et Jéjé.

AVANT-PROPOS

Mon projet de doctorat s'intègre dans un projet plus global à vocation aquacole. Aux Îles de la Madeleine, la culture de la moule bleue (*Mytilus edulis*, L. 1758) repose intégralement sur le captage de naissain (juvénile) en milieu naturel. Cette étape est réalisée entre les mois de juin et octobre, lors de la période de reproduction. La majorité des producteurs locaux (deux entreprises sur trois) cultivent leurs moules en lagune. Les mytiliculteurs captent leur naissain sur des collecteurs (cordes de polypropylène), qui sont récoltés à la fin de la saison pour effectuer le boudinage. Les moules sont triées (> 15 mm) puis fixées sur des nouvelles structures (boudins), à une densité optimale pour la croissance. Les boudins sont ensuite immergés dans les sites de grossissement jusqu'à ce que les moules atteignent la taille commerciale (55–60 mm), 18 à 24 mois plus tard.

Depuis 1991, la phase d'approvisionnement en naissain se déroule dans le bassin du Havre-Aubert (BHA), alors que le grossissement s'effectue dans la lagune du Havre-aux-Maisons et celle de Grande-Entrée. Le BHA est un site de choix pour le captage car l'approvisionnement en naissain y était stable au fil des ans et les individus collectés sont de qualité nettement supérieure à ceux issus des autres lagunes : ils sont plus résistants aux épisodes de mortalité estivale et leur taille moyenne à l'automne est plus importante. Ainsi, la production des mytiliculteurs dépend étroitement de la productivité du BHA. Néanmoins, les taux de captage désastreux lors des saisons 2004 et 2006 ont hypothéqué les productions. C'est pourquoi, la sécurisation de cet approvisionnement fut identifiée comme « la » priorité de recherche et développement pour les mytiliculteurs.

En réponse à cette demande, un projet fut élaboré et mis en place à l'hiver 2007 afin d'approfondir les connaissances sur le recrutement des moules en milieu naturel et de tester spécifiquement plusieurs hypothèses explicatives des mauvaises années de captage. S'intitulant « Compréhension des mécanismes assurant le succès d'approvisionnement en naissain de moule de qualité dans le bassin du Havre-Aubert », cette étude est issue de la collaboration entre le Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries, et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ) et l'Université du Québec à Rimouski (UQAR). Le MAPAQ assumait la partie appliquée en offrant un soutien technique et scientifique aux professionnels, tandis que l'UQAR prenait en charge le volet académique en intégrant au projet ma thèse de doctorat. Ainsi, mes recherches avaient comme objectifs d'étudier les mécanismes impliqués dans la fixation des jeunes moules sur les collecteurs, et de caractériser les facteurs susceptibles d'influencer le succès de la fixation.

La réalisation de ce projet n'aurait pu se faire sans le travail précieux des équipes techniques des centres de recherche et laboratoires avec lesquels j'ai collaboré au cours de ces cinq dernières années : le Centre Maricole des Îles-de-la-Madeleine (CeMIM) ; le Centre Aquacole Marin de Grande-Rivière (CAMGR) ; l'Institut de Recherche en Zones Côtières de Shippagan (IRZC) ; le Laboratoire de Biotechnologie et Chimie Marine de Lorient de l'Université de Bretagne Sud (LBCM-UBS) ; et l'Institut des Sciences de la Mer de l'Université du Québec à Rimouski (ISMER-UQAR). Centres de recherche et d'appui technologique du Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries, et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ), le CeMIM et le CAMGR sont devenus des antennes régionales de Merinov, le Centre d'innovation de l'aquaculture et des pêches du Québec depuis l'année 2010.

Je remercie donc tout particulièrement Jules Arseneau, Yvon Chevarie, Carole Cyr, Francine Aucoin, Jacques Richard, Jean-Guy Turbide, Claude Poirier, François Gallien, Émélie Vigneau et Lucie Poirier du CeMIM ; Sonia Bellevin du CAMGR ; Anthony Magueresse du LBCM ; et Iften Redjah, Sylvain Leblanc, Gilles Desmeules, Claude Belzile, Richard Saint-Louis, Pascal Rioux, Nathalie Morin, Simon Sanneville, Dominique Lavallée, Sylvie Fillion, Jocelyne Desgagnée et Nycolie Bérubé de l'ISMER. Je remercie également tous les collaborateurs et spécialistes du milieu pour leur aide et critiques constructives : François Bourque (CeMIM-Merinov), Lisandre Gilmore-Solomon, Suzanne Roy, Eva Alou-Font, Oscar Casa-Monroy, Philippe Archambault, André Rochon (ISMER-UQAR), Sylvie Lessard, Christopher McKindsey (Institut Maurice Lamontagne) Connie Lovejoy, Vani Mohit, Bérangère Péquin, Gaétan Daigle (Université Laval, Québec), Isabelle Linossier, Nathalie Bourgougnon (LBCM-UBS), André Martel, Michel Poulin (Musée de la Nature, Ottawa), Tarik Méziane (MNHN), Véronique Martin-Jézéquel (Université de Nantes), et Marie-Josèphe Chrétiennot.

Je remercie les organismes qui ont soutenu financièrement ce projet : le Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries, et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ), la Société de Développement de l'Industrie Maricole (SODIM), la Fondation communautaire Gaspésie-Les Îles (FCGI), le Réseau Aquaculture Québec (RAQ), le Conseil de Recherches en Sciences Naturelles et en Génie du Canada (CRSNG), les Chaires de Recherche du Canada (CRC), et la Fondation Canadienne pour l'Innovation (FCI). Je remercie aussi les mytiliculteurs madelinots qui m'ont permis de travailler dans leurs concessions : Michel Fournier (Moules de Culture des Îles) et Carlo Eloquin (Grande-Entrée Aquaculture).

Enfin, j'adresse des remerciements spéciaux à mes directeurs, Réjean Tremblay, Bruno Myrand, et Frédéric Olivier, qui ont su me guider et me transmettre, chacun à leur manière, leur rigueur scientifique et leur passion pour la biologie marine. Merci à Bruno pour m'avoir permis de « rester » aux Îles ; et merci à Réjean d'avoir accepté que l'on travaille à distance.

RÉSUMÉ

Chez les invertébrés benthiques marins à cycle de vie benthopélagique, le taux de fixation-métamorphose est l'un des facteurs déterminant du succès de recrutement et donc du renouvellement des populations. Relié à l'abondance et au comportement des stades péri-métamorphiques (larves compétentes et post-larves), le taux de fixation est régulé par l'interaction de multiples facteurs endo- et exogènes. Prérequis du fonctionnement vital des organismes hétérotrophes, la ressource trophique est un facteur exogène biotique d'importance puisqu'elle affecte leur condition physiologique. Son influence sur le recrutement n'est souvent envisagée que d'un point de vue quantitatif alors que les recherches menées en laboratoire attestent de l'importance de sa qualité lipidique. Dans ce contexte, la présente étude a pour objectif principal d'évaluer l'influence de la qualité de la ressource trophique sur le succès de recrutement et implique la moule bleue (*Mytilus edulis*, L 1758) comme modèle biologique.

La recherche se concentre sur les sources de nourriture potentiellement disponibles pour les stades péri-métamorphiques soit, le plancton et le biofilm. Une emphase est portée aux acides gras polyinsaturés (PUFA) et essentiels (EFA), dont le caractère indispensable aux organismes aquatiques est largement admis. De plus, les études menées sur le recrutement décrivent un découplage benthopélagique entre larves et recrues, une importante variabilité spatio-temporelle de la fixation, ainsi qu'une synchronisation du pic de fixation. La disponibilité en larves et le comportement sont souvent les facteurs incriminés, mais l'origine de tels phénomènes demeure encore incertaine. La présente étude propose donc d'apporter des éléments de réponse supplémentaires en fournissant une analyse fine de la variabilité spatio-temporelle au cours de l'ontogénie larvaire.

Ce projet est constitué de trois grands axes de recherche dans lesquels nous définissons la fixation comme le processus par lequel les individus s'associent au substrat, et le recrutement comme le nombre d'individus présents à un temps t de la vie benthique :

- i) Considérant la théorie de « *match/mismatch* » de Cushing, nous posons les hypothèses que la concentration en EFA dans la nourriture influence les succès de fixation et de recrutement. Nous avons suivi simultanément le développement larvaire et les conditions trophiques pendant deux saisons de reproduction successives (2007 et 2008);
- ii) Considérant le biofilm comme une ressource trophique potentielle, nous posons les hypothèses que le taux de fixation augmente avec l'âge du biofilm et son contenu en EFA. Nous avons conditionné et caractérisé finement des biofilms en milieu naturel afin de tester leur influence sur le succès de fixation des moules;

- iii) Considérant le rôle important du comportement et des conditions physiologiques des stades péri-métamorphiques, nous posons les hypothèses d'une importante variabilité spatiale à petite échelle, d'un découplage benthopélagique et d'un avantage physiologique lors du pic de fixation. Nous avons suivi le développement larvaire dans plusieurs sites, ainsi que la qualité lipidique des post-larves et de leur nourriture.

Nos résultats mettent en évidence le contrôle prédominant des communautés phytoplanctoniques sur le succès de recrutement de la moule bleue *via* deux processus novateurs : i) le « *match/mismatch* » avec la qualité lipidique du plancton et ii) le déclencheur trophique de la fixation (« *trophic settlement trigger* », TST). Le rôle nutritionnel des PUFA/EFA semble important pour le recrutement de l'année, mais leur teneur dans les compartiments benthiques et pélagiques ne semble pas pour autant affecter le comportement et la physiologie des jeunes moules au cours de la saison. Ces dernières semblent répondre fortement aux variations d'abondance du picoplancton autotrophe (picoeucaryotes, $< 2 \mu\text{m}$) au sein de ces deux compartiments. Enfin, nos résultats montrent un couplage benthopélagique entre larves et recrues, et suggèrent pour la première fois que le découplage dépende de deux traits comportementaux typiques des bivalves : le retard de métamorphose et la dérive byssopélagique.

Cette recherche apporte de nouvelles pistes de réflexion quant à l'écologie des invertébrés benthiques et souligne l'importance de considérer la composante planctonique et le comportement au cours de l'ontogénie larvaire et post-larvaire lors des travaux menés sur la dynamique des populations en milieu naturel. Une emphase particulière devrait être portée sur la qualité lipidique et la composition taxonomique de la ressource trophique, et la séparation des différents stades de développement semble nécessaire pour comprendre la dynamique des populations. La notion de TST constitue le point majeur de l'étude puisqu'il s'agirait d'un signal indépendant de l'habitat prospecté qui synchroniserait un comportement de fixation, peu importe la qualité du substrat et/ou l'histoire de vie des individus.

Mots clés : *Mytilus edulis*, larve, post-larve, fixation, match-mismatch, déclencheur trophique de la fixation, biofilm, lipides, acides gras.

ABSTRACT

The rate of settlement-metamorphosis is one of the determinant factors for the recruitment success, and thus the populations' renewal, in benthic marine invertebrates with benthic-pelagic life-cycle. Related to the abundance and behavior of perimorph stages (competent larvae and post-larvae), the settlement rate is regulated by the interaction of multiple endo- and exogenous factors. Pre-required for the vital functioning of heterotrophic organisms, the trophic resource is an important exogenous biotic factor as it affects their physiological conditions. Its influence on recruitment is often considered in a quantitative point of view whereas laboratory researches certify the importance of its lipid quality. In such context, the main objective of the present study is to evaluate the influence of the trophic resource quality on the recruitment success, using the blue mussel (*Mytilus edulis*, L 1758) as biological model.

The research concentrated on the potential food resources available for the perimorph stages, such as the plankton and the biofilm. A particular emphasis is given to polyunsaturated (PUFA) and essential fatty acids (EFA), which are largely recognized to be indispensable for aquatic organisms. Moreover, studies dealing with recruitment show a benthic-pelagic decoupling between larvae and recruits, an important spatio-temporal variability of the settlement, and settlement peak synchronization. Even if larval availability and behavior are often incriminated factors, origins of such phenomenon still remain uncertain. Thus, the present study proposes to provide additional response elements by producing a fine analysis of the spatio-temporal variability during the larval ontogeny.

Three principal research axes constitute the project where we define the settlement as the process by which individuals associate to the substrate, and the recruitment as the number of individuals present at a time t of the benthic life:

- i) Considering the Cushing « *match/mismatch* » theory, we hypothesize that EFA concentration in the food influence the success of both settlement and recruitment. We simultaneously monitored the larval development and the trophic conditions during two successive reproductive seasons (2007 and 2008);
- ii) Considering biofilm as potential trophic resource, we hypothesize that the settlement rate increases with the biofilm age and its EFA content. We conditioned and performed a fine characterization of biofilms in order to test their influence on mussels' settlement success;
- iii) Considering the important role of behavior and physiological conditions in perimorph stages, we hypothesized an important microscale spatial variability, a benthic-pelagic decoupling, and a physiological advantage during the settlement

peak. We monitored the larval development in several sites, and also the lipid quality of post-larvae and of their trophic resources.

Our results highlight the predominant control of phytoplanktonic communities on the blue mussel recruitment success *via* two innovative processes: i) the match/mismatch with the planktonic lipid quality, and ii) the trophic settlement trigger (TST). Nutritional role of PUFA/EFA seems to be important for the recruitment of the year, but their concentration in benthic and pelagic compartments seems not to insofar as affect behavior and physiology of young mussels during the season. The latest seems to strongly respond to variations in autotrophic picoplankton (picoeukaryotes, $< 2 \mu\text{m}$) abundance within both compartments. Finally, our results show a benthic-pelagic coupling between larvae and recruits, and suggest for the first time that decoupling depends on the two typical behavioral traits of bivalves: the metamorphosis delay and the bysso-pelagic drifting.

This research provides new lines of thinking about the benthic invertebrates ecology and highlights the need to consider planktonic compartment, and behavior during the larval and post-larval ontogeny when working on the population dynamics in the field. A special emphasis should be given to the trophic resources lipid quality and taxonomical composition, and the separation of the different developmental stages appears necessary to understand populations dynamic. The notion of TST constitute the major point of the study as it would rely on a cue independent from the prospected habitat that would synchronize the settlement behavior, whatever substratum quality and/or individual historic life.

Keywords: *Mytilus edulis*, larvae, post-larvae, settlement, match-mismatch, trophic settlement trigger, biofilm, lipids, fatty acids.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS.....	IX
RÉSUMÉ	XIII
ABSTRACT.....	XV
TABLE DES MATIÈRES.....	XVII
LISTE DES TABLEAUX.....	XIX
LISTE DES FIGURES	XXI
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES	XXV
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
CHAPITRE 1 MATCH/MISMATCH ENTRE LE STOCK LARVAIRE DE <i>MYTILUS EDULIS</i> ET LA QUALITE DU SESTON : EFFET SUR LE RECRUTEMENT.....	45
1.1 RESUME	46
1.2 MATCH/MISMATCH BETWEEN THE <i>MYTILUS EDULIS</i> LARVAL SUPPLY AND SESTON QUALITY: EFFECT ON RECRUITMENT	47
CHAPITRE 2 EFFET DE L'AGE DU BIOFILM SUR LA FIXATION DE <i>MYTILUS EDULIS</i>	73
2.1 RESUME	74
2.2 EFFECT OF THE BIOFILM AGE ON <i>MYTILUS EDULIS</i> SETTLEMENT.....	75
CHAPITRE 3 VARIATIONS SPATIO-TEMPORELLES DE LA FIXATION ET CONDITIONS PHYSIOLOGIQUES DES POST-LARVES DE MOULE	121
3.1 RESUME	122

3.2 SPATIO-TEMPORAL VARIATIONS IN SETTLEMENT AND PHYSIOLOGICAL CONDITIONS OF BLUE MUSSEL POST-LARVAE	123
CHAPITRE 4 CONCLUSION.....	149
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	165

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Liste des acides gras marqueurs trophiques (FATM).....	18
Tableau 2: Sommaire des réponses comportementales à la lumière, la gravité et la pression chez les larves de <i>Mytilus edulis</i>	25
Table 3: Results of t-tests comparing 2007 and 2008 data in BHA.....	56
Table 4: Schedules for biofilm conditioning and settlement experimentation in BHA with the beginning date and the duration (dd/mm (day)), and the average temperature for each session.	80
Table 5: List of the parameters and the associated dimensions of samples for the biofilm characterization in 2009 (S4).	81
Table 6: Results of repeated measures ANOVAs investigating the temporal evolution of the biofilm characteristics in 2009 (S4).	89
Table 7: Results from univariate PERMANOVAs investigating differences in bacterial (a) and eukaryotic (b) communities between biofilm ages in 2009 (S4).	91
Table 8: Results from SIMPER analysis investigating the dissimilarity in bacterial communities between biofilm ages in 2009 (S4).	93
Table 9: Fatty acids profiles of the biofilm and the conditioning water in 2009 (S4).	96

Table 10:	Physical characterization of the growing biofilm and effect of the biofilm age in 2009 (S4).	97
Table 11:	Results of repeated-measures ANOVAs investigating the effect of date and station on mussel larval stage, settlement and recruitment.	133
Table 12:	Results of repeated-measures ANOVAs investigating the effect of date on seston lipid quality as well as the effect of date and lipid fractions on settled post-larvae physiological conditions.	137
Table 13:	Mean fatty acids profiles (%) in post-larvae and seston, and results of ANOVAs comparing mean FA rates between lipid fractions of post-larvae and seston.	140

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Représentation schématique des hypothèses concernant le retard de métamorphose.	3
Figure 2: Facteurs influençant le succès de recrutement.....	9
Figure 3: Patrons de biosynthèse des acides gras chez les producteurs primaires.	15
Figure 4: Patron de biosynthèse des acides gras chez les herbivores.....	21
Figure 5: Cycle de développement de la moule bleue <i>Mytilus edulis</i> (L 1758).	23
Figure 6: Description anatomique des différents stades larvaires chez <i>Mytilus edulis</i>	24
Figure 7: Comparaison visuelle entre une larve pédivéligère et une post-larve de <i>Mytilus edulis</i>	26
Figure 8: Modifications morphologiques d'une larve de <i>Mytilus edulis</i> au cours du retard de métamorphose (Stades 1 à 3).	29
Figure 9: Proportion de diverses sources de nourriture organique chez les larves de <i>Mytilus edulis</i>	31
Figure 10: Comportements d'alimentation dépositore chez les juvéniles de <i>Villosa iris</i>	34
Figure 11: Cils du pied (flèche rouge) chez une grosse pédivéligère de <i>M. edulis</i> (384x336 µm).	35

Figure 12: Localisation du site d'étude.	39
Figure 13: Photographie satellite du Bassin du Havre-Aubert.	39
Figure 14: Location and map of 'Bassin du Havre-Aubert' (BHA) showing mussel farms, the natural mussel beds, and the 2007 and 2008 sampling stations.	51
Figure 15: Monitoring mussel larvae and post-larvae in 2007 and 2008	57
Figure 16: Monitoring seston and environmental conditions in 2007 and 2008	61
Figure 17: Monitoring concentrations of plankton components in 2008.....	63
Figure 18: Study site for the biofilm conditioning and sampling design for the test on mussel's settlement.....	79
Figure 19: Mussels' settlement rate as a function of biofilm age in BHA for every session.	88
Figure 20: Characterization of bacterial and eukaryotic communities of each biofilm age in 2009 (S4).	92
Figure 21: Composition of a) bacteria and b) unicellular eukaryotes communities of each biofilm age in 2009 (S4).	94
Figure 22: Study sites and sampling design.....	128
Figure 23: (a) Veligers and (b) pediveligers concentration, (c) settlement rate of pediveligers and (d) their proportion among total settlers, and (e) post-larvae settlement rate in stations I, II and III in BHA, in 2008.	134
Figure 24: (a) Proportion of pelagic post-larvae among potential settlers, (b) their concentration , (c) the settled post-larval size and mass in station II, and (d) size class frequencies in station II in BHA, in 2008.....	135

Figure 25: Mussel recruitment in stations I, II and III in BHA, in 2008.....	136
Figure 26: (a-c) Mass and proportion of fatty acids in the seston, and (d-e) mass of total lipids and proportions of lipid classes, (f) TAG/ST ratio, and (g-i) mass and proportions of fatty acids in mussel post-larvae.	139
Figure 27: Schéma conceptuel montrant les mécanismes identifiés au cours du projet.	151

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

	<u>Français</u>	<u>English</u>
AA	acide arachidonique (20 :4 ω -6)	arachidonic acid
ANOVA	analyse de variance	analysis of variance
BHA	bassin du Havre-Aubert	
BHT	hydroxytoluène butylé (HTB)	butylated hydroxytoluene
CLSM	microscopie confocale à balayage laser (MCBL)	confocal laser scanning microscopy
DCM	dichlorométhane	dichloromethane
DHA	acide docosahexaénoïque (ADH, 22 :6 ω -3)	docosahexaenoic acid
DPA	acide docosapentaénoïque (AED, 22 :5 ω -3)	docosapentaenoic acid
DNA	acide désoxyribonucléique (ADN)	desoxyribonucleic acid
EFA	acide gras essentiel (AGE)	essential fatty acids
EPA	acide eicosapentaénoïque (AEP, 20 :5 ω -3)	eicosapentaenoic acid
EPS	substance polymérique extracellulaire	extracellular polymer substance
FA	acide gras (AG)	fatty acid

	<u>Français</u>	<u>English</u>
FAME	ester méthylique d'acide gras (EMAG)	fatty acid methyl ester
FATM	acide gras marqueur trophique	fatty acid trophic markers
FCM	cytométrie en flux (CMF)	flow cytometry
FID	détecteur à ionisation de flamme (DIF)	flame ionization detection
GC	chromatographie en phase gazeuse (CPG)	gas chromatography
HNA	contenu élevé en acide nucléique	high nucleic acid
Hx	hypothèse n° x	hypothesis n° x
LA	acide linoléique (AL, 18 :2 ω -6)	linoleic acid
LNA	contenu faible en acide nucléique	low nucleic acid
MA	acide myristique (AM, 14 :0)	myristic acid
MeOH	méthanol	méthanol
DOM	matière organique dissoute (MOD)	dissolved organic matter
MUFA	acide gras monoinsaturé (AGMI)	monounsaturated fatty acid
MTFA	masse des acides gras totaux	mass of total fatty acids
MS	spectrométrie de masse (SM)	mass spectrometry
NL	lipides neutres (LN)	neutral lipids
NMI	non interrompu par un méthylène	non-methylen interrupted

	<u>Français</u>	<u>English</u>
OA	acide oléique (18 :1 ω -9)	oleic acid
OTU	unité taxonomique opérationnelle (UTO)	operational taxonomic units
OBFA	acides gras impaires et branchés	odd and branched fatty acids
PA	acide palmitique (16 :0)	palmitic acid
PBS	tampon phosphate salin	phosphate buffered saline
PCR	amplification en chaîne par polymérase (ACP)	polymerase chain reaction
PFA	paraformaldéhyde	paraformaldehyde
PhL	phospholipide	phospholipid
PIM	matière inorganique particulaire (MIP)	particulate inorganic matter
POM	matière organique particulaire (MOP)	particulate organic matter
PL	lipides polaires (LP)	polar lipids
PP	polypropylène	polypropylen
PUFA	acide gras polyinsaturé (AGPI)	polyunsaturated fatty acid
rRNA	acide ribonucléique ribosomique (ARNr)	ribosomal ribonucleic acid
SA	acide stéarique (18 :0)	stearic acid
SE	erreur standard	standard error

	<u>Français</u>	<u>English</u>
SEM	microscope électronique à balayage (MEB)	scanning electron microscope
SFA	acide gras saturé (AGS)	saturated fatty acid
ST	stérol	sterol
TAG	triacylglycérol	triacylglycerol
TFA	acides gras totaux (AGT)	total fatty acids
TL	lipides totaux (LT)	total lipids
TLC	chromatographie sur couche mince (CCM)	thin-layer chromatography
TPM	matière particulaire totale (MPT)	total particulate matter

INTRODUCTION GÉNÉRALE

En milieu tempéré, plus de 70% des espèces d'invertébré marin ont un cycle de vie complexe avec une phase de dispersion larvaire dans le plancton (Thorson 1950). Au cours des dernières décennies, l'étude de la dynamique des communautés marines benthiques a traité plus particulièrement des processus écologiques qui affectent les stocks larvaires plutôt que les adultes (« *supply-side ecology* », Lewin 1986) en considérant que la disponibilité larvaire est le facteur limitant du recrutement (« *recruitment limitation* », Hughes 1990). Hughes (2000) précisera que les facteurs influençant la reproduction seraient tout aussi importants puisqu'ils agissent indirectement sur la production larvaire. Pendant la phase de dispersion larvaire, tout facteur endo- et/ou exogène susceptible de ralentir le cycle de développement larvaire entraîne indirectement la réduction du nombre de survivants en rallongeant le temps de résidence dans le pelagos (Widdows 1991). Les larves sont alors exposées à plusieurs risques relatifs à la vie pélagique, qui pourraient expliquer des taux de mortalité proches de 90% au cours de l'ontogénie (Morgan 1995a, Pedersen et al. 2008). Globalement, le succès de recrutement dépend des facteurs qui régulent la dynamique d'une population, de la production de la larve jusqu'à la vie adulte. Ceci crée une ambiguïté dans la définition du recrutement, dont le patron temporel varie en fonction de l'espèce étudiée (Watson & Barnes 2004) : à quel moment du cycle de vie peut-on parler de recrue ? Définir le recrutement comme le nombre d'individus présents à un temps t de la vie benthique permet de satisfaire tout expérimentateur, mais une attention particulière doit être portée aux échelles spatio-temporelles utilisées pour étudier ce processus chez une espèce en particulier (Caley et al. 1996). Dans ce sens, l'analyse séquentielle du recrutement semble adéquate pour évaluer l'importance relative des mécanismes impliqués en distinguant, par exemple, les phases de fixation et post-fixation.

1. LE RECRUTEMENT DES ESPÈCES BENTHIQUES

Pour les espèces benthiques, la fin de la vie pélagique est marquée par l'étape de fixation-métamorphose, durant laquelle les risques de mortalité sont également très élevés (Thorson 1966). Le taux de fixation larvaire est considéré comme le facteur déterminant pour le succès du recrutement et donc pour la structure des communautés (Gaines & Roughgarden 1985). Selon Rodriguez (1993), la fixation commence dès que les larves initient un comportement de recherche d'un substrat adéquat et s'achève quand la métamorphose est déclenchée. Cet auteur distingue alors deux grandes phases dans la fixation : le comportement de prospection d'habitat et l'initiation de la métamorphose.

En réponse à l'absence ou à la présence de signaux chimiques et/ou physiques de l'habitat prospecté, les larves se laissent transporter vers un autre habitat ou se métamorphosent et passent à une vie benthique (Crisp 1974, Pawlik 1992). A ce stade, il est important de définir la métamorphose car ce concept très généraliste s'applique à une grande diversité d'espèces vivantes mais ne correspond pas pour autant aux mêmes transformations morphologiques et/ou physiologiques (Bishop et al. 2006b). Dans la présente étude, la métamorphose est définie comme la transformation d'une larve compétente en une post-larve :

- i) **La compétence** est acquise au cours du dernier stade de la vie larvaire : les larves compétentes sont donc plus âgées que les pré-compétentes et s'en distinguent par leur capacité à assurer leur fixation et leur métamorphose (Carriker 1961, Day & McEdwards 1984). L'acquisition de la compétence se traduit par l'apparition de nouvelles structures anatomiques et l'adoption d'un comportement de prospection. Les larves compétentes répondent à une hiérarchie de signaux sensitifs qui leur permettent d'apprécier la qualité de l'habitat de fixation (Kingsford et al. 2002), qui est caractérisé par son biotope et sa biocénose. La sélection par les larves est principalement influencée par la disponibilité relative des habitats ainsi que par le temps alloué à la recherche d'un habitat de qualité (Toonen & Tyre 2007). Les larves compétentes ont la capacité de retarder leur métamorphose lorsque les conditions

rencontrées ne sont pas favorables, de se disperser à nouveau et finalement de prospector de nouveaux habitats (voir la revue de Pechenik 1990). Cette capacité à étendre la phase pélagique est variable selon les espèces, les facteurs environnementaux et les conditions physiologiques. De plus, un certain déterminisme génétique intervient dans la sensibilité aux signaux inducteurs de la fixation (Botello & Krug 2006). Bishop et al. (2006a) proposent de regrouper en trois grandes hypothèses les différents comportements larvaires et issues potentielles en l'absence de signaux favorisant la métamorphose: i) la rétention variable, ii) la larve désespérée et iii) la mort avant le déshonneur. Ces auteurs utilisent le terme 'rétention' uniquement pour désigner la capacité à conserver les attributs larvaires en retardant la métamorphose; aucune notion de limitation spatiale n'est alors considérée (Fig. 1).

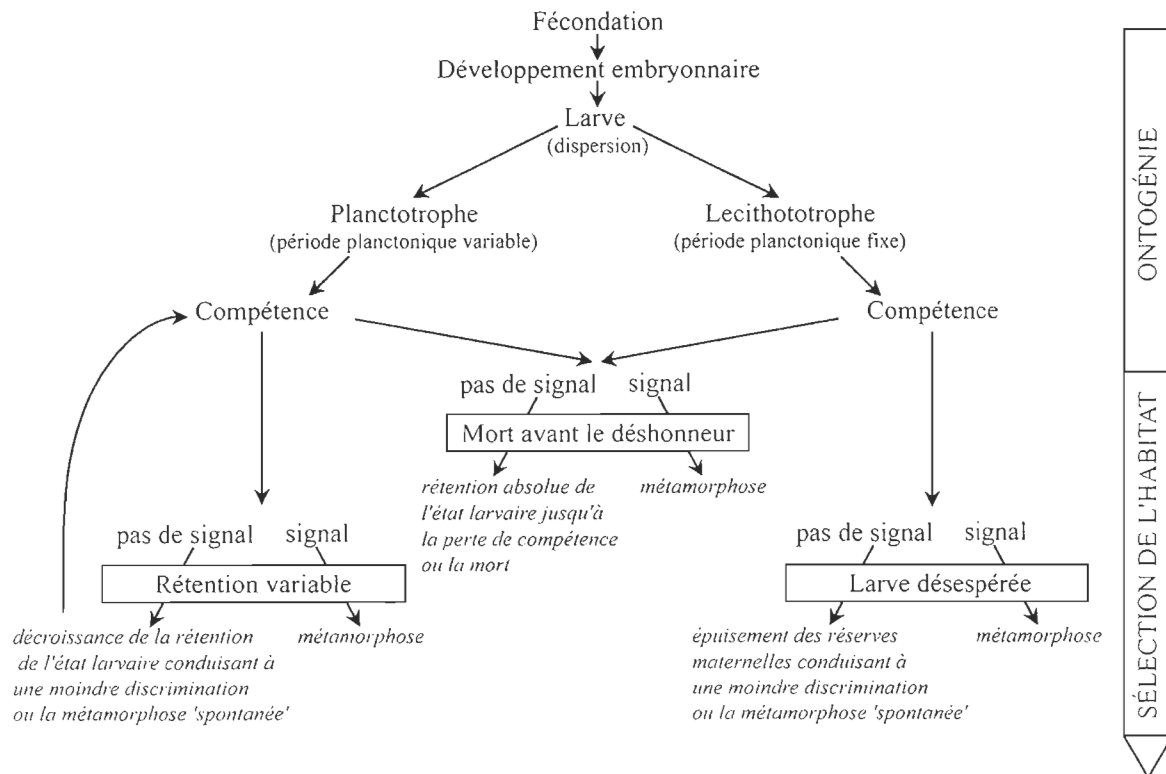


Figure 1: Représentation schématisée des hypothèses concernant le retard de métamorphose.

Détail des issues potentielles chez les invertébrés marins (extrait et traduit de Bishop et al. 2006a).

ii) **La métamorphose** en post-larve est marquée par de profondes modifications morphologiques, anatomiques, physiologiques et comportementales, qui sont en adéquation avec une vie sur le fond. La post-larve constitue le premier stade benthique et se distingue du juvénile (jeune adulte sexuellement immature) par des traits anatomiques et comportementaux caractéristiques (p. ex. Bayne 1964a, Erlandsson et al. 2008). En réalité, la phase de métamorphose peut être progressive, avec une durée variable d'une espèce à l'autre. Par exemple, le polychète *Pectinaria koreni* initie sa métamorphose dans la colonne d'eau et acquiert les caractéristiques morphologiques propices à la vie benthique seulement quinze jours après sa fixation (Lambert et al. 1996).

Une fois métamorphosés en post-larves, les individus ont la capacité de se disperser à nouveau et il est désormais admis qu'un tel phénomène pourrait avoir plus d'influence que la prédation sur la dynamique des populations (Norkko et al. 2001). Classiquement décrite chez les mollusques bivalves (p. ex. Cummings et al. 1993, Garcia-Esquivel & Bricelj 1993, Olivier et al. 1996, de Montaudouin 1997, Wang & Xu 1997), la dispersion au sein de la couche suprabenthique a été observée aussi pour d'autres embranchements d'invertébrés benthiques tels que les arthropodes, les échinodermes et les annélides (p. ex. Olivier et al. 1996, Olivier & Retière 1998, Palma et al. 1998, Mercier et al. 2000, Moksnes et al. 2003). Ce processus de dispersion post-larvaire induit souvent plusieurs migrations secondaires d'une aire de nurserie vers une aire adulte (Beukema & de Vlas 1989). Également observée chez les adultes à plus petite échelle spatiale, cette capacité de dispersion lors de la vie benthique contribue à la plasticité des communautés (Günther 1992) en réponse à des événements stressants, tels que la prédation, la compétition inter- et intra-spécifique ou les perturbations physico-chimiques.

Par conséquent, le succès de recrutement est fortement dépendant de la durée de dispersion larvaire, mais aussi du temps consacré à la recherche d'un habitat de qualité (Keough & Downes 1982, Sponaugle et al. 2002). Il est intéressant de noter que la dispersion et la prospection sont des comportements typiques des larves compétentes, qui

se retrouvent aussi chez les post-larves. Ainsi, tout facteur exo- et endogène influençant les stades péri-métamorphiques est susceptible d'affecter le succès de recrutement d'une espèce.

Il y a soixante ans, Gunnar Thorson (1950) établit le paradigme que la phase planctonique comporte beaucoup plus de risques que la phase benthique et stipule que la variabilité spatio-temporelle des populations adultes est fortement reliée au bon déroulement de la vie pélagique. Néanmoins, l'évaluation de la mortalité planctonique en milieu naturel relevant du défi, il n'existe pas vraiment de données pour attester de la véracité de cette croyance (Morgan 1995a, Morgan 2001). A cet égard, suffisamment d'études démontrent que les processus post-fixation jouent un rôle significatif dans la régulation des populations et l'organisation des communautés (Gosselin & Qian 1996, 1997, Hunt & Scheibling 1997, Bownes & McQuaid 2009) pour conclure que la disponibilité larvaire n'est pas le facteur prééminent expliquant le succès de recrutement (revue de Olafsson et al. 1994).

Précisant que la mortalité post-fixation est très souvent sous-estimée, Gosselin et Qian (1997) validèrent son impact au cours des 4 mois succédant la fixation et confirmèrent qu'en tant qu'agent de pression démographique, elle influence fortement l'âge de maturité sexuelle, surtout chez les invertébrés benthiques à maturation rapide (< 45 jours). De surcroît, il est primordial de considérer le développement larvaire et post-larvaire comme un continuum plutôt qu'une succession d'étapes distinctes puisqu'un événement stressant de la vie larvaire (tel que le retard de métamorphose) peut avoir des conséquences ultérieures, au cours de la vie post-métamorphique (Pechenik & Cerulli 1991, Pechenik et al. 1993, Pechenik et al. 1998, Qian & Pechenik 1998, Marshall et al. 2003). Pechenik (2006) parle alors « d'effet latent » pour décrire tout phénomène originaire de la phase larvaire qui ne s'exprime que chez les post-larves ou les adultes.

2. LES GRANDES THEORIES DU RECRUTEMENT

L'ensemble des hypothèses émises quant au déterminisme du recrutement d'espèces possédant une phase larvaire est issu des travaux pionniers de Johan Hjort (1869–1948). Cet océanographe norvégien fut le premier à se pencher sur les mécanismes contrôlant le recrutement des espèces de l'ichthyofaune. Dans sa théorie de la « *période critique* », cet auteur part du postulat, qu'outre la prédation, les larves deviennent vulnérables à la famine lors du passage de l'endo- à l'exotrophie. Il suppose que le succès du recrutement est déterminé par la présence de proies lors de la première alimentation (Hjort 1914). Dans sa théorie du « *transport* », Hjort relie le succès du recrutement aux mécanismes de dispersion/rétention larvaire dans un système hydrographique. Dans la version originale de l'hypothèse, Hjort (1926) énonce qu'une advection des larves de poissons démersaux au-dessus des grands fonds entraîne une mortalité massive lors de la métamorphose. Cet auteur part alors du postulat que plus les larves grossissent rapidement lors de cette période de vulnérabilité intense, meilleur sera le recrutement. Considérant que la rétention/dispersion à l'intérieur ou vers une zone hydrographique favorable constitue un pré-requis pour une croissance larvaire optimale, Hjort souligne l'importance des conditions trophiques et de la variabilité des courants océaniques pour le recrutement des larves de poissons.

Un demi siècle plus tard, Harden-Jones (1968) remet à jour la théorie du « *transport* » et précise que les stratégies de reproduction permettent d'associer la dispersion larvaire à des systèmes hydrographiques annuellement récurrents, qui conduisent les larves dans des zones où la production de proies est favorisée. Lorsque ces patrons récurrents sont perturbés, les larves risquent d'être entraînées vers des régions où la production biologique est inadéquate. Quelques années plus tard, David Cushing (1972) élabore une version temporelle de cette dernière théorie en émettant l'hypothèse du « *match/mismatch* », qui assume que le succès de recrutement repose sur les variations interannuelles dans le synchronisme entre le cycle de production de la ressource trophique et celui des consommateurs.

Rapidement, cette première version fut mise à jour, en intégrant le fait que des conditions sous-optimales de nutrition n'entraînent pas nécessairement la mort par inanition (Cushing & Harris 1973, Anderson 1988, Cushing 1990, Cushing & Horwood 1994). La théorie du « *match/mismatch* » a été confirmée à différents niveaux trophiques et à diverses échelles spatiales. Cette hypothèse a été le plus souvent appliquée pour expliquer la relation entre l'ichtyofaune et le zooplancton (Fortier & Gagne 1990, Gotceitas et al. 1996, Johnson 2000, Beaugrand et al. 2003), mais elle fut aussi validée chez les invertébrés marins (Bos et al. 2006a, Ouellet et al. 2007). Au sein d'un réseau trophique, un tel phénomène est susceptible d'affecter les différents échelons de l'écosystème (Durant et al. 2005, Durant et al. 2006, Malzahn et al. 2007) et les facteurs environnementaux, comme le climat, influencent la phénologie de la faune marine et donc le synchronisme entre les cycles de production (Edwards & Richardson 2004, Durant et al. 2007, Yang & Rudolf 2010).

A la même période, Reuben Lasker énonce la théorie de « l'Océan stable » (1975, 1978) dans laquelle il soutient que l'agrégation des proies facilite la nutrition des larves en réduisant l'effort de quête alimentaire. Dans ce cas, les conditions hydrodynamiques constituent le facteur déterminant la nutrition et la survie larvaire. En perturbant la structure spatiale des proies, un brassage vertical (dû au vent par exemple) réduirait l'efficacité d'alimentation des larves. Néanmoins, un minimum de mélange est essentiel à l'upwelling des nutriments nécessaires au soutien de la production primaire. L'alternance de stabilité et de mélange vertical au cours de la saison de reproduction d'une espèce apparaît donc optimale pour la nutrition et la survie. Ce phénomène est d'ailleurs démontré à l'échelle spatiale avec le concept d'ergocline de Legendre & Demers (1985). Peu de temps après, Rothschild & Osborn (1988) suggèrent que c'est la force du mélange qui est discriminante, car un mélange vertical facilite également la nutrition en augmentant la probabilité de rencontre entre les larves et leurs proies.

A l'encontre des hypothèses trophiques, Iles & Sinclair (1982) proposent l'hypothèse de la « rétention larvaire », qui stipule que l'exportation des larves hors de leur 'territoire' constitue une perte sèche pour les populations indigènes. Sinclair (1988) précise cette

théorie et suggère que la force d'une classe d'âge dépend essentiellement du nombre de larves retenues dans les limites du système hydrographique et non de processus trophiques. Il propose ainsi l'hypothèse du « *member/vagrant* » qui serait applicable pour l'ensemble des espèces et des systèmes hydrographiques. A cet égard, la synthèse des nombreuses données acquises sur la balane *Semibalanus balanoides* atteste de la validité des hypothèses de transport à l'échelle régionale (revue de Gaines & Bertness 1992).

L'ensemble des grandes hypothèses relatives au recrutement sont issues des recherches menées au cours du siècle dernier, par le Conseil International pour l'Exploration de la Mer (CIEM, ou ICES en anglais) sur les grandes pêcheries de hareng. L'historique des interprétations émises quant à la régulation des populations reflète la robustesse des paradigmes scientifiques, suggérant alors que les avancées en science du recrutement marin reposent d'avantage sur la résistance scientifique aux nouvelles idées telle qu'énoncée par Kuhn que sur la réfutabilité scientifique proposée par Popper (Sinclair 2009).

3. FACTEURS INFLUENÇANT LE RECRUTEMENT DES INVERTÉBRÉS BENTHIQUES

L'étude du recrutement et de la dynamique des populations s'avère être très complexe puisque ces processus sont sous le contrôle d'une multitude de facteurs, qui agissent à différentes échelles spatio-temporelles, et dont les effets peuvent interagir. Contraints par des aspects pratiques et logistiques, les spécialistes du recrutement doivent choisir entre des méthodes soit trop réductionnistes (se focalisant sur une étape ou un mécanisme particulier) soit trop simplistes (nécessitant une simplification des processus pour élaborer des modèles statistiques très complexes) pour obtenir une certaine compréhension du recrutement (Pineda et al. 2009).

Le passage de la vie pélagique à la vie benthique est l'étape critique du recrutement pendant laquelle la présence de larves dans la colonne d'eau constitue un pré-requis pour la fixation. Pourtant, la relation entre l'abondance larvaire et la quantité d'individus fixés est loin d'être évidente : les auteurs décrivent souvent un découplage pélogo-benthique (Miron

et al. 1995) dont la principale source identifiée est le comportement de l'espèce étudiée (Pineda et al. 2010). Ainsi, le recrutement des invertébrés benthiques repose sur l'action d'une grande variété de facteurs, biotiques et abiotiques, qui régulent le stock (abondance), mais aussi le comportement des stades péri-métamorphiques (larves et post-larves). La liste des facteurs dressée ci-après est très générale (Figure 2) et n'a pas la vocation d'être exhaustive puisqu'elle varie d'une espèce à l'autre.

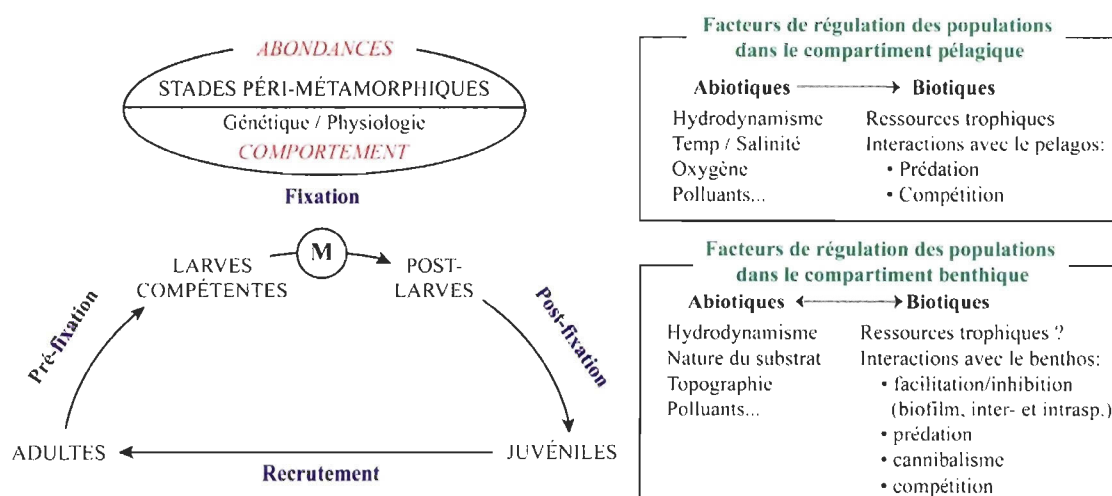


Figure 2: Facteurs influençant le succès de recrutement

Bien sûr, le succès de la reproduction est la condition *sine qua non* pour qu'une population puisse se renouveler. Les processus reproductifs opérant lors de la phase benthique adulte sont donc les premiers facteurs qui influencent le recrutement, puisqu'ils ont un impact fondamental sur la distribution et l'abondance larvaire (Hugues 2000). L'étude de la reproduction implique la prise en compte de multiples paramètres, endo- et exogènes, qui régulent la maturation des gamètes, mais aussi leur émission et leur probabilité de rencontre chez les espèces à fécondation externe. Ces aspects ne sont pas détaillés dans la présente étude qui se concentre uniquement sur les phases larvaire et post-larvaire.

Parmi les facteurs abiotiques, l'hydrodynamisme est un facteur primordial pour la dynamique des populations des animaux marins benthiques car il influence l'advection des

larves (Incze et al. 2000), le contact avec le substrat dans la couche limite benthique (Eckman 1983, Butman 1987) et donc le succès de recrutement (Archambault & Bourget 1999). A l'échelle d'un site de fixation, la force du courant affecte aussi la structure des populations en agissant directement sur le détachement des individus fixés (Alfaro 2005, Alfaro 2006, Olivier & Retière 2006). De plus, tout événement hydrodynamique susceptible de modifier la structure sédimentaire peut fortement influencer la survie et la distribution des espèces de substrat meuble (Hall 1994) et ce, particulièrement après la fixation. A micro-échelle, les conditions d'écoulement en couche limite de fond (à l'interface eau-substrat) conditionne la sélectivité de l'habitat (Mullineaux & Butman 1991, Mullineaux & Garland 1993, Harvey & Bourget 1997, Qian et al. 1999). Ainsi, la forme du substrat affecte le taux de fixation puisqu'elle modifie les patrons hydrodynamiques locaux (Rittschof et al. 2007). A cet égard, de nombreuses études ont démontré que les substrats filamenteux sont propices à la fixation des jeunes recrues (Eyster & Pechenik 1987, Harvey & Bourget 1997, Bourget & Harvey 1998, Dobretsov & Miron 2001). De plus, la température et la salinité sont deux paramètres majeurs influençant la croissance, la survie (Hrs-Brenko & Calabrese 1969, Lough 1974, Incze et al. 1980, Pechenik 1990) et le comportement larvaire (Bayne 1965, Beaumont & Budd 1982). La gamme de tolérance thermo-haline est variable d'une espèce à l'autre et ces facteurs environnementaux sont déterminants pour le métabolisme des organismes (Rico-Villa et al. 2009, Ben Kheder et al. 2010a, Rayssac et al. 2010). Finalement, les concentrations en oxygène et en polluants sont également susceptibles d'affecter le recrutement en agissant sur le métabolisme, la croissance et la métamorphose (Widdows 1991, Alfaro 2005).

Parmi les facteurs biotiques, la prédation est souvent le premier paramètre envisagé car son impact sur le succès de survie semble considérable à toutes les étapes du recrutement. Une récente étude suggère d'ailleurs que la variabilité de l'abondance des adultes fluctuerait d'avantage en fonction de la prédation qu'en fonction du recrutement (Rilov & Schiel 2011). Néanmoins, bien que la prédation des premiers stades benthiques est largement admise et bien documentée (Osman & Whitlatch 1995, 2004, Miron et al. 2005), celle des stades planctoniques est beaucoup moins reconnue puisqu'il est très

difficile d'en mesurer les effets qui dépendent de l'hydrodynamisme et de l'échelle spatiale de dispersion (revue de Pineda et al. 2010). Décrite chez quelques espèces (Young & Gotelli 1988), la prédation des stades pré-métamorphiques est bien souvent reliée à de l'alimentation non-sélective (par ex. les filtreurs), plutôt qu'à de la prédation au sens strict, qui implique la mise en place de stratégies de capture. Dans ce sens, les individus pélagiques sont donc menacés par toute espèce planctophage qui est souvent, par voie de fait, cannibale (Davenport et al. 2000, Navarrete & Wiersma 2000) même si certains auteurs ont montré que le cannibalisme s'avère très limité (Tamburri et al. 2007).

Les relations inter- et intra-spécifiques sont aussi des facteurs biotiques importants pour le succès de fixation, qui agissent sur le comportement *via* des phénomènes de compétition et de facilitation/inhibition. Une importante compétition peut intervenir au cours de la vie post-larvaire pour l'espace disponible (Erlandsson & McQuaid 2004, Erlandsson et al. 2005), mais aussi pour l'accès à une ressource trophique. Aussi, la présence d'une espèce peut faciliter (Bruno et al. 2003) mais aussi inhiber l'installation d'une autre espèce en modifiant la structure physico-chimique de l'habitat (Graf 1992, Jones et al. 1994) et/ou en sécrétant des substances chimiques (Clare 1996, Fusetani 2004). Dans le cas des relations intra-spécifiques, une attraction des larves par les adultes est généralement constatée (revue de Pawlik 1992). L'étude du chimiotactisme se rapporte souvent au biofilm, particulièrement bactérien, qui affecte considérablement le comportement de fixation des larves (revue de Hadfield 2011). Bien sûr, la réponse des jeunes individus aux signaux issus du biofouling dépend de l'espèce étudiée ainsi que de l'âge, de la composition et de l'activité métabolique du biofilm (Satuito et al. 1995, Keough 1998, Wiczorek & Todd 1998). Dans un contexte écosystémique, il est important de considérer l'ensemble des membres d'une communauté, puisqu'une relation particulière entre deux espèces est susceptible d'affecter celle(s) qui existe(nt) avec d'autres espèces (effets indirects, Menge 1995).

Enfin, la disponibilité de la ressource trophique semble pouvoir influencer le succès de recrutement chez certains groupes taxonomiques à phase larvaire planctotrophique

(Olson & Olson 1989). Néanmoins, une restriction alimentaire est susceptible d'affecter les performances larvaires sans pour autant conduire à la mort (Bos et al. 2007). En réalité, les dommages liés au jeûne semblent ne pas affecter la période larvaire et s'expriment uniquement chez les post-larves, qui présentent souvent des taux de croissance et de survie réduits : c'est le principe « d'effet latent » cité précédemment (Pechenik et al. 1996a, Pechenik et al. 1996b, McEdwards & Qian 2001). Reflet du métabolisme, l'état physiologique des jeunes individus dépend de leurs caractéristiques génétiques (Innes & Haley 1977, Myrand et al. 2002) et surtout des conditions biotiques et abiotiques auxquelles ils sont soumis (Pechenik et al. 1990, Pernet et al. 2007).

Chez les larves planctotrophes, la condition physiologique est donc intimement liée aux conditions trophiques qui déterminent les réserves énergétiques larvaires dont dépendent le succès de métamorphose, mais aussi et surtout la performance des post-larves (Phillips 2002, Thiagarajan et al. 2005). Les conditions trophiques et physiologiques sont donc deux facteurs biotiques primordiaux pour le succès de recrutement d'une espèce puisqu'ils ont une influence directe sur l'abondance des jeunes recrues (Gosselin & Qian 1997) et l'état physiologique des larves est d'autant plus important qu'il affecte aussi le comportement, particulièrement lors de la phase de prospection de l'habitat (Bayne 1983, Pernet et al. 2003b).

4. QUALITÉ DE LA RESSOURCE TROPHIQUE ET RECRUTEMENT DES LARVES PLANCTOTROPHES

Majoritairement composés d'acides gras (FA), les lipides sont la matière grasse des êtres vivants : matériaux essentiels à la formation des cellules et tissus chez les animaux, ils constituent aussi leur source principale en énergie métabolique (Bergé & Barnathan 2005). Les espèces, pour lesquelles l'investissement parental est réduit, ont une phase larvaire planctotrophique, dont le bon déroulement dépend de la valeur nutritive de la ressource trophique (Widdows 1991). Les besoins nutritionnels des larves sont non seulement caractérisés par la quantité, mais aussi par la qualité des aliments (Baldwin & Newell

1995), puisque le contenu et la composition lipidique des larves sont des facteurs critiques pour leur développement et leur fixation (Jonsson et al. 1999). Ainsi, la présente étude se concentre sur la qualité de la ressource trophique qui, modulant les conditions physiologiques des larves, influence indirectement les abondances et le comportement des stades péri-métamorphiques lors du recrutement.

Les besoins nutritionnels

Des processus importants du développement tels que la fécondation, la flottabilité ou la fixation-métamorphose sont dépendants du contenu en lipides (Harii et al. 2007). Les lipides sont regroupés en plusieurs grandes classes dont les deux principales sont généralement : les phospholipides (PhL) et les triacylglycérols (TAG). Les PhL ont un rôle structural majeur puisque ce sont les matériaux de base des membranes plasmiques cellulaires (Lee et al. 2006). Les TAG constituent l'énergie primaire de réserve chez les larves (Holland 1978, Waldock & Holland 1978, Gallager et al. 1986, Delaunay et al. 1992). Considéré comme un bon indice de la qualité larvaire (Fraser 1989), le contenu en TAG est positivement relié à la survie, au comportement de prospection de l'habitat, mais aussi au succès de fixation et de métamorphose (Thiyagarajan et al. 2002, Pernet et al. 2004, Tremblay et al. 2007). La réorganisation tissulaire qu'imposent les modifications morphologiques lors de la métamorphose est en effet très consommatrice en énergie. Le succès du recrutement dépend donc de l'accumulation de réserves énergétiques endogènes, résultat de l'histoire trophique de la larve, afin de soutenir cette étape (Pernet et al. 2003a). En plus de la teneur en grandes classes de lipides, la composition en FA constitue un autre indicateur de l'état physiologique (Leonardos & Lucas 2000).

Les animaux peuvent biosynthétiser des acides gras saturés (SFA) et monoinsaturés (MUFA), mais cette capacité est très limitée pour les acides gras polyinsaturés (PUFA). En effet, l'absence d'enzymes spécifiques (désaturases $\Delta 12$ et $\Delta 15$; Figure 3a) empêche la biosynthèse *de novo* des acides linoléiques ($18:2\omega-6$, LA) et α -linoléiques ($18:3\omega-3$, LNA) qui sont des précurseurs (intermédiaires métaboliques) de PUFA à 20 et 22 carbones

(Figure 3b) dont l'importance est démontrée depuis une trentaine d'années chez les animaux (de Moreno et al. 1976). Possédant ces enzymes, les végétaux sont les seuls producteurs de LA et LNA (Dalsgaard et al. 2003) qui sont considérés comme essentiels au sens strict du terme (Innis 2005). Provenant uniquement de l'alimentation, ces FA sont considérés comme nécessaires à la survie et la croissance (Sargent et al. 1995). Les LA et LNA peuvent, *via* des mécanismes d'élongation et de désaturation, être métabolisés en PUFA (Das 2006), tels que les acides eicosapentanoïques (20:5 ω -3, EPA), docosahexaénoïques (22:6 ω -3, DHA) et arachidoniques (20:4 ω -6, AA ; Figure 3b).

Bien qu'elle soit largement démontrée chez les animaux terrestres, cette capacité d'élongation et de désaturation des précurseurs en EPA, DHA et AA est limitée chez les animaux marins et considérée comme inexistante chez les bivalves (Marty et al. 1992, Delaunay et al. 1993, Soudant et al. 1998, Glencross 2009). Ces PUFA (EPA, DHA et AA) sont également considérés comme des acides gras essentiels (EFA) pour la croissance et la survie des animaux marins. Leur importance a été démontrée à de multiples reprises pour assurer la croissance larvaire, la fixation et le développement post-larvaire des bivalves (Langdon & Waldock 1981, Delaunay et al. 1993, Soudant et al. 1998, Labarta et al. 1999, Pernet & Tremblay 2004, Pernet et al. 2005, Gagné et al. 2010). Récemment, Parrish (2007) a suggéré que l'acide docosapentanoïque (22:5 ω -6, DPA) peut être aussi considéré comme essentiel au développement larvaire. Chez les invertébrés benthiques, le contrôle métabolique de la composition en FA repose majoritairement sur une incorporation sélective des FA alimentaires plutôt que sur la métabolisation de précurseurs (Marty et al. 1992) puisque ce processus est trop faible pour assurer des niveaux élevés en FA (Delaunay et al. 1993).

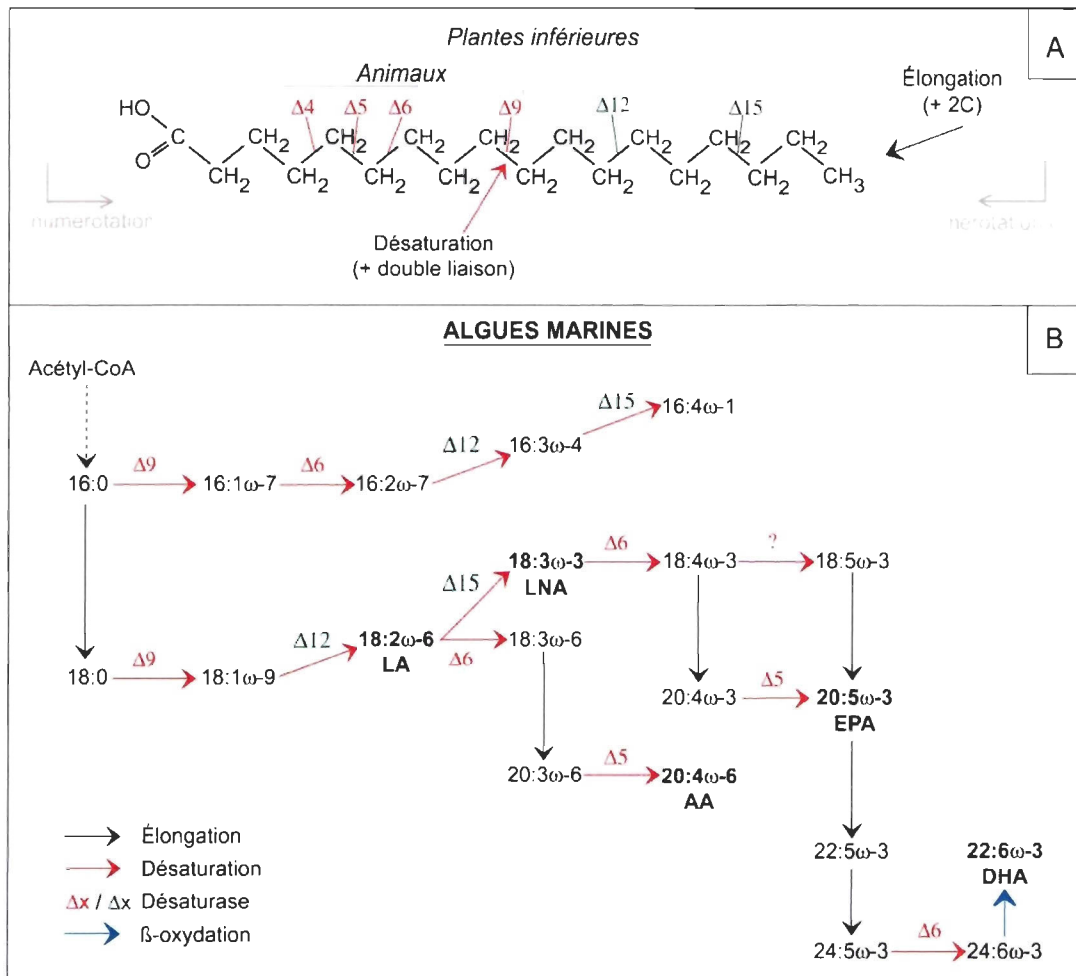


Figure 3: Patrons de biosynthèse des acides gras chez les producteurs primaires.

Extrait et adapté de Dalsgaard et références incluses (2003). A) Détail des enzymes désaturases présentes chez les animaux et les plantes inférieures et de leur action sur un acide gras (18:0); B) Patrons de biosynthèse des acides gras essentiels chez les algues marines, tels que LA : acide linoléique, LNA : acide α-linolénique, AA : acide arachidonique, EPA : acide eicosapentanoïque, et DHA : acide docosahexaénoïque.

En intégrant les phospholipides membranaires, les EFA et particulièrement le DHA ont un rôle structural important dans le maintien de l'intégrité fonctionnelle des membranes biologiques (Delaunay et al. 1993, Hazel 1995, Soudant et al. 1998) qui sont de véritables « pacemakers » du métabolisme (Hulbert & Else 1999). Modulant l'activité moléculaire, la composition en FA membranaire influence indirectement le métabolisme de base (Hulbert

& Else 2005). De plus, les EFA et particulièrement l'EPA et l'AA assurent un rôle métabolique, en tant que précurseurs d'eicosanoïdes, un groupe d'hormones à forte activité biologique (Howard & Stanley 1999, Smith & Murphy 2003). L'AA semble aussi jouer un rôle fonctionnel pour la reproduction (Hurtado et al. 2009), l'immunité (Delaporte et al. 2006) et la dégradation des tissus larvaires (Pernet et al. 2005). Ainsi, les phases de fixation-métamorphose et de développement post-larvaire peuvent être compromises si les larves compétentes n'ont pas accumulé suffisamment d'énergie et/ou d'EFA au cours de leur développement. Les PUFA à longues chaînes carbonées (tels que les EFA) sont des éléments nutritionnels clefs déterminant pour la production secondaire (Brett & Muller-Navarra 1997)

La qualité de la ressource trophique

Chez les espèces dont les larves sont planctotrophes, les besoins énergétiques requis pour la fixation-métamorphose et le développement des jeunes post-larves sont assurés par les réserves énergétiques accumulées lors de la phase larvaire (Videla et al. 1998, Phillips 2002, Pernet et al. 2004, Phillips 2004). La valeur nutritive de la ressource trophique (estimée *via* le taux de croissance larvaire) est caractérisée par sa digestibilité, son contenu en métabolites toxiques, mais aussi et surtout par sa composition biochimique. En détaillant l'importance relative des composants chimiques du phytoplancton pour l'élevage des larves de bivalves, Webb et Chu (1983) ont souligné l'importance du contenu en lipides, et particulièrement du taux en PUFA, pour la croissance larvaire. Une corrélation positive a ainsi été démontrée à plusieurs reprises entre le taux de croissance des larves d'huîtres et le contenu en EPA et DHA dans la ressource trophique (Langdon & Waldock 1981, Enright et al. 1986b, a). Globalement, une ressource trophique riche en EPA, DHA et AA assure le bon développement de jeunes individus (Utting & Millican 1998, Wacker et al. 2002) dont le contenu lipidique est fortement influencé par l'alimentation (Whyte et al. 1989, Whyte et al. 1991, Delaunay et al. 1993, Soudant et al. 1996, Farias et al. 2003, Nevejan et al. 2003, Pernet et al. 2005). La qualité de la ressource trophique (composition biochimique) est donc un facteur primordial susceptible d'influencer la croissance et la survie larvaire, la fixation-

métamorphose, mais aussi le développement post-larvaire. Dans un modèle de production planctonique intégrant la qualité du phytoplancton, Perahr et Arhonditsis (2009) ont montré que du phytoplancton de bonne qualité stabilise les écosystèmes planctoniques tout en leur assurant une bonne capacité de résilience : de fortes biomasses zooplanctoniques maintiennent une production phytoplanctonique de base et les détritux algaux constituent une bonne ressource alternative pour les brouteurs lorsque les conditions sont limitantes pour le phytoplancton.

La disponibilité de la ressource trophique influence la composition lipidique des organismes marins (Fernandez-Reiriz et al. 1999, Delaporte et al. 2005, Narvaez et al. 2008) dont le contenu en PUFA varie beaucoup plus dans le temps que dans l'espace (Ventrella et al. 2008). Par exemple, la concentration en PUFA augmente considérablement en été, lorsque le phytoplancton domine la ressource trophique (Freites et al. 2002a). La valeur énergétique de la ressource trophique dépend aussi de la composition taxonomique du plancton puisque la composition en FA varie d'une espèce à l'autre (Volkman et al. 1989, Parrish et al. 1991, Viso & Marty 1993, Servel et al. 1994). Les autotrophes, tels que les diatomées ou les flagellés, contiennent des taux en PUFA et EFA bien plus élevés que les hétérotrophes (Sargent et al. 1999, Pernet et al. 2003c, Shin et al. 2008). Ainsi, les FA constituent de véritables biomarqueurs des groupes taxonomiques contenus dans la ressource alimentaire (marqueurs trophiques; revue de Dalsgaard et al. 2003). Par exemple, l'EPA est typique des diatomées (Napolitano et al. 1997), le DHA et l'AA sont caractéristiques des dinoflagellés (Wilson et al. 2010) et les FA à nombre impair d'atomes de carbone sont spécifiques des bactéries (Rezanka & Sigler 2009). Toutefois, la caractérisation de la ressource *via* l'étude des marqueurs trophiques (FATM) peut s'avérer fastidieuse car un même FA peut être associé à plusieurs types d'organismes (Tableau 1).

Tableau 1: Liste des acides gras marqueurs trophiques (FATM)

FATM	Références
<i>Bacteria</i>	
acides gras impaires ou branchés (OBFA)	Wakeham (1995), Pranal et al. (1996), Budge& Parrish (1998), Budge et al. (2001), Rezanka& Sigler (2009)
15:0i, 15:0ai, 17:0i et 17:0ai	Viso& Marty (1993), Stevens et al. (2004a)
15:0, 17:0	Parkes& Taylor (1983), Rezanka& Sigler (2009)
17:1	Rezanka& Sigler (2009)
16:1ω-7 (bactéries et cyanobactéries)	Wakeham (1995), Desvilettes et al. (1997)
18:1ω-7	Perry et al. (1979), Parkes& Taylor (1983), Kharlamenko et al. (1995), Budge& Parrish (1998), Mayzaud et al. (2000), Meziane& Tsuchiya (2000)
<i>Phytoplankton</i>	
PUFA	Volkman et al. (1989)
18:4ω-3	Graeve et al. (1994b)
<i>Diatomées</i>	
14:0	Napolitano et al. (1997)
16:1ω-7	Ackman et al. (1968), Volkman et al. (1989), Viso& Marty (1993), Graeve et al. (1994a), Napolitano et al. (1997), Budge& Parrish (1998), Kharlamenko et al. (1995), Shin et al. (2008), Biandolino et al. (2008)
16:1ω-7 + 18:1ω-7	Graeve et al. (2001), Nelson et al. (2001), Auel et al. (2002)
16:4ω-1	Napolitano et al. (1997)
20:5ω-3 (EPA)	Kharlamenko et al. (1995), Napolitano et al. (1997), Pond et al. (1998)
C20 PUFA	Wilson et al. (2010)
<i>Dinoflagellés</i>	
18:0	Napolitano et al. (1997)
18:1ω-9	Napolitano et al. (1997)
C18 PUFA	Wilson et al. (2010)
18:4ω-3	Napolitano et al. (1997), Mansour et al. (1999), Biandolino et al. (2008)
20:4ω-6 (AA)	Wilson et al. (2010)
C22 PUFA	Wilson et al. (2010)
22:6ω-3 (DHA)	Joseph (1975), Wilson et al. (2010)
<i>Diatomées vs dinoflagellés</i>	
16:1 / 16:0 (élevé = diatomées)	Jeffries (1970), Graeve et al. (1994b), Cripps et al. (1999), Nelson et al. (2001), Auel et al. (2002), Wilson et al. (2010)
20:5ω-3 / 22:6ω-3 (élevé = diatomées)	Nelson et al. (2001), Phleger et al. (2002)
<i>Flagellés</i>	
16:0	Sargent& Whittle (1981), Virtue et al. (1993), Biandolino et al. (2008)
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	
18:3ω-3 et 18:4ω-3	Chu et al. (2008)

<i>Protozoaires</i>	
20:4 ω -6 (AA)	Howell et al. (2003)
<i>Copépodes</i>	
20:1 ω -9	Sargent& Henderson (1986), Kattner et al. (2003)
22:1 ω -11	Wilson et al. (2010)
20:4 ω -6 (AA)	Stevens et al. (2004b)
<i>Matière terrestre</i>	
18:2 ω -6	Napolitano et al. (1997)
18:2 ω -6 + 18:3 ω -3 (> 2.5)	Budge& Parrish (1998), Budge et al. (2001)
<i>Détritus</i>	
SFA	Fahl& Kattner (1993)
14:0, 14:1, 18:0 et 18:1	Freites et al. (2002b)
14:0 et 16:0	Perry et al. (1979)
14:0, 16:0 et 18:0	Galap et al. (1999)
<i>Régime alimentaire carnivore</i>	
18:1 ω -9	Knox (1986), Falk-Petersen et al. (1998), Cripps& Atkinson (2000), Nelson et al. (2001), Falk-Petersen et al. (2002), Phleger et al. (2002)
18:1 ω -9 / 18:1 ω -7 (élevé)	Graeve et al. (1997), Auel et al. (2002)
20:1 ω -9	Knox (1986), Falk-Petersen et al. (1998), Falk-Petersen et al. (2002), Bachok et al. (2003)
<i>Régime alimentaire omnivore</i>	
14:0 et 16:0	Graeve et al. (1994b)

PUFA : acides gras polyinsaturés; EPA : acide eicosapentaénoïque; AA : acide arachidonique; DHA : acide docosahexaénoïque; SFA : acides gras saturés.

En contradiction avec ce qui est classiquement démontré, certains auteurs ont observé des taux non-négligeables d'EFA chez des protistes hétérotrophes (Veloza et al. 2006, Chu et al. 2008), suggérant alors que ces organismes ont la capacité de biosynthétiser *de novo* ces PUFA (Lund et al. 2008, Bec et al. 2010). De telles découvertes renforcent le besoin de réviser le paradigme selon lequel les microalgues constitueraient les producteurs principaux de PUFA (Nichols 2003). Il apparaît donc fondamental de suivre la qualité lipidique de la ressource trophique dans les études traitant du recrutement (Vargas et al. 2006). Au cours de la dernière décennie, Cunnane (2000, 2003) critiqua l'utilisation du terme « essentiel » et proposa la formulation « conditionnellement indispensable » afin d'améliorer la compréhension actuelle de la fonction et du métabolisme des PUFA. Selon lui, l'utilisation du premier terme conduirait à se focaliser uniquement sur certains FA (tels que EPA, DHA

et AA) tout en négligeant l'étroite relation qui existe avec les autres FA et la variabilité du caractère indispensable de certains FA en fonction de l'organe étudié. De plus, la majorité des études traitant de l'importance des EFA sont conduites en laboratoire, avec des conditions trophiques radicalement différentes de celles observées sur le terrain.

En milieu naturel, la ressource trophique est très souvent limitée, fournissant aux larves l'énergie nécessaire au maintien de leur métabolisme de base sans pour autant atteindre des taux de croissance optimaux (Bos et al. 2006b). D'un point de vue lipidique, les organismes montrent des profils en PUFA ω -3 beaucoup plus homéostatiques en milieu naturel qu'en laboratoire, où la nourriture est en excès (Muller-Navarra 2006). Certaines études ont même suggéré le rôle négligeable des EFA classiques à partir de travaux menés en milieu abyssal où la production autotrophe est nulle (Pond et al. 1998, Saito 2007, 2008). En effet, les animaux marins ont la capacité de biosynthétiser *de novo* des PUFA particuliers (Figure 4): les FA non-méthylène interrompus (NMI; Ackman & Hooper 1973, Paradis & Ackman 1977, Zhukova 1986, Barnathan 2009) qui pourraient constituer des PUFA alternatifs lors d'une déficience en EFA (Klingensmith 1982, Zhukova et al. 1992, Pernet et al. 2006b). Cette hypothèse relativise l'importance de l'EPA, le DHA et l'AA dont le caractère inconditionnellement essentiel au développement des organismes aquatiques est encore largement admis (Glencross 2009).

5. LE RECRUTEMENT CHEZ LA MOULE BLEUE

La moule bleue, *Mytilus edulis* (Linné, 1758), est un mollusque bivalve (lamellibranche) épibenthique appartenant à la famille des Mytilidés. Cette espèce boréale-tempérée (Seed 1976) a une aire de répartition très vaste puisqu'elle est présente au sud de l'océan Arctique et au nord des océans Atlantique et Pacifique. Sur la côte Est américaine, ses populations se distribuent du Labrador à la Caroline du Nord (Wells & Gray 1960). Typique des eaux marines côtières (littorales et sublittorales; < 99 m), *Mytilus edulis* a déjà été recensée dans des eaux plus profondes et donc plus froides (100-499 m; Theroux & Wigler 1983).

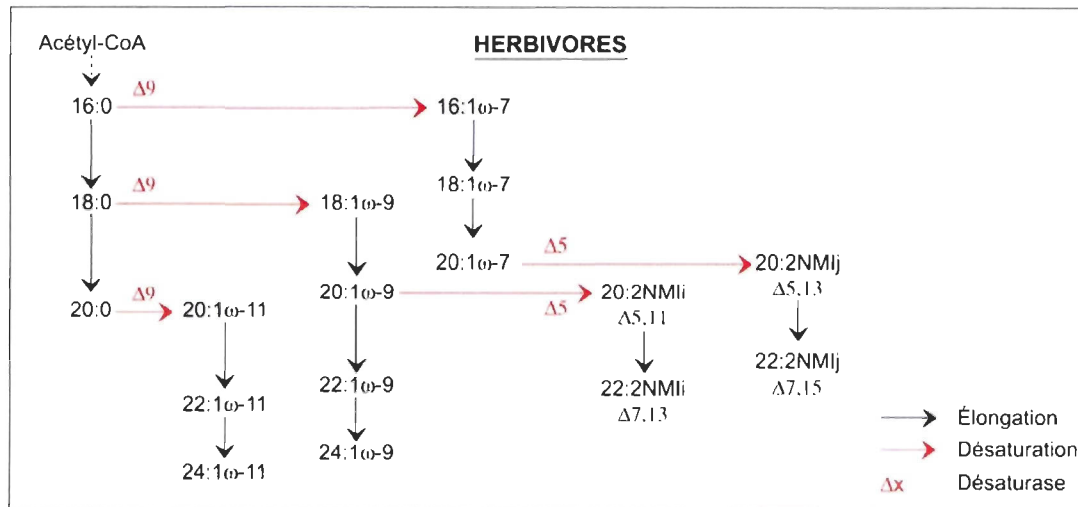


Figure 4: Patron de biosynthèse des acides gras chez les herbivores.

Extrait et adapté de Dalsgaard et références incluses (2003), et de Zhukova (1991) pour la synthèse des acides gras NMI (non-méthylés interrompus).

La moule bleue est une espèce semi-sessile qui vit attachée à un substrat fixe par des filaments byssaux composés de protéines et de collagène (byssus; Waite et al. 1998, Waite & Qin 2001), mais qui peut se détacher et réaliser des mouvements limités (Seed 1969) dans un contexte d'auto-organisation (van de Koppel et al. 2008). La moule bleue est une espèce ovipare dioïque à fécondation externe. Des cas d'hermaphrodisme ont toutefois déjà été observés (Seed 1976). L'émission des gamètes dans la colonne d'eau est synchrone entre les mâles et les femelles afin d'optimiser leur rencontre (Newell 1989). La période de reproduction est variable d'une population à l'autre et la disponibilité en nourriture semble être le facteur prédominant dans la régulation des cycles de reproduction : leur régularité interannuelle serait reliée aux facteurs influençant la production phytoplanctonique (Newell et al. 1982).

Chez *Mytilus edulis*, le cycle de développement larvaire dure classiquement 3-4 semaines. A 18 °C, le taux de croissance est de 12 µm par jour, mais il n'y a pas de relation entre la longueur de la coquille et la masse des tissus (Widdows 1991). La phase larvaire s'achève par la métamorphose en post-larves, qui se développe ensuite en juvénile.

Le passage à la vie adulte (première reproduction potentielle) peut intervenir dès l'âge de 1-2 mois, lorsque les individus atteignent 15-20 mm (Suchanek 1981). Le cycle de développement de *M. edulis* est détaillé dans les sections suivantes qui synthétisent principalement les informations issues de la revue de littérature rédigée par Lutz & Kennish (1992), mais aussi des travaux du biologiste Brian Bayne, un des chercheurs qui a le plus contribué à la description de cette espèce et à la compréhension des mécanismes impliqués dans son cycle de vie, particulièrement lors de la phase larvaire (p.ex. 1976).

Le cycle de développement larvaire

Le cycle de vie de *M. edulis* débute par une phase larvaire planctonique comportant une phase lécithotrophe, à laquelle se succèdent une phase de croissance puis une phase de fixation. Le cycle de développement de *M. edulis* est schématisé dans la Figure 5 et une brève description anatomique est présentée pour plusieurs stades de développement dans la Figure 6. Au cours de la première phase, un embryon cilié se forme dans les heures qui suivent la fécondation pour se différencier 24–48 heures plus tard en larve « trochophore ». A ce stade, la larve est dotée d'un cil apical et d'un vélum (membrane ciliée développée autour de la plaque apicale) qui lui permettent de nager. Lors de la phase de croissance, la première coquille « prodissochonch I » est synthétisée par une glande située dans l'ectoderme dorsal, et la larve est pourvue d'une bouche et d'un système digestif fonctionnels. On parle alors de larves « véligères » (100–120 μm) qui peuvent se déplacer et s'alimenter dans la colonne d'eau. La jeune larve véligère est nommée « D-véligère » en raison de sa forme générale.

Rapidement, des glandes situées dans le manteau synthétisent un deuxième type de coquille que des stries de croissance caractérisent : la « prodissoconch II ». En vieillissant, la coquille se bombe vers l'extérieur au niveau de la charnière formant ce que l'on appelle un « umbo » (140–150 μm). Rendue à ce stade, la larve est appelée « umbo-véligère ». La coquille continue à se déformer jusqu'à ce que la larve prenne une forme arrondie (210–230 μm). Parallèlement, le pied apparaît (195–210 μm) et se développe jusqu'à ce

qu'il devienne fonctionnel (210–300 μm), c'est-à-dire qu'il permette aux individus en prospection de ramper sur le substrat, mais aussi de synthétiser des filaments de byssus afin de se fixer. Quelques jours avant l'acquisition de la compétence pour la fixation, un 'œil' photosensible (« eye-spot ») se développe sous la coquille, au milieu de chaque valve. La taille à laquelle cet organe se forme est très variable (220–260 μm) et serait dépendante des contraintes environnementales (Wang & Widdows 1991).

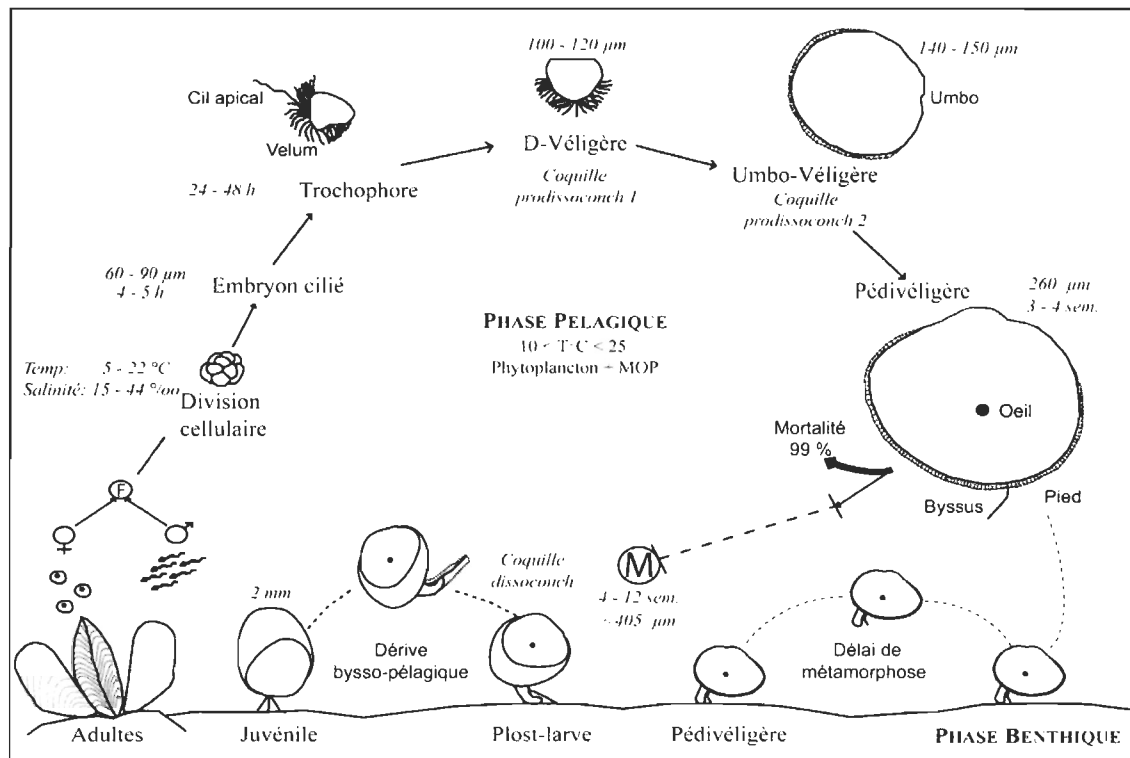


Figure 5: Cycle de développement de la moule bleue *Mytilus edulis* (L 1758).

F: fécondation; M: métamorphose.

La phase de fixation implique une acquisition de compétence qui classiquement correspond à une taille moyenne de 260 μm (Bayne 1965, McGrath et al. 1988). Toutefois, cette taille à compétence est extrêmement variable selon les auteurs et, à titre d'exemple, Widdows (1991) la fixe à 300 μm . Les larves sont alors nommées « pédivéligères » (Figure 6) (Carriker 1961) et sont caractérisées par un large vélum, un système digestif rudimentaire (palpe cilié, bouche, œsophage, estomac et intestin simple), un fin manteau

(contenant des glandes sécrétrices de coquille), un système nerveux composé de trois ganglions (cérébral, viscéral et pédal), un système sensoriel (statocystes, plaque apicale et œil), quelques paires de filaments branchiaux et un pied (contenant des glandes sécrétrices de byssus) (Bayne 1971). A ce stade, le pied joue un rôle fondamental puisqu'il permet la mobilité et la fixation sur un substrat. Lane & Nott (1975) décrivent la présence de 9 sortes de glandes qui sécrètent des molécules spécifiques telles un mucus facilitant la reptation ou une colle permettant l'adhésion du pied au substrat.

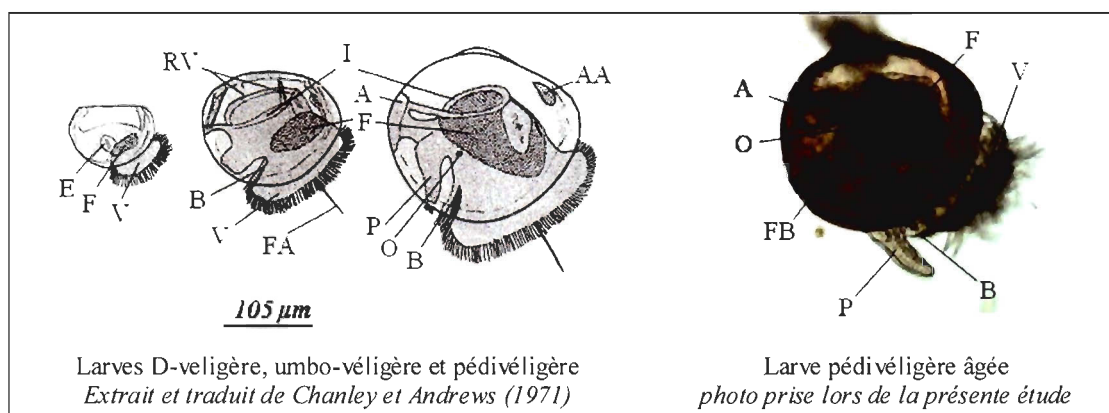


Figure 6: Description anatomique des différents stades larvaires chez *Mytilus edulis*.

E = estomac, F = foie ou diverticule digestive, V = vélum, FA = flagelle apical, B = bouche, RV = muscles rétracteurs du vélum, I = intestin, A = anus, AA = muscle adducteur antérieur, P = pied, O = œil pigmenté, FB = filaments branchiaux.

Le comportement pendant la phase larvaire

Toutes les larves de lamellibranches nagent selon une trajectoire hélicoïdale, alternant des phases de mobilisation active et de sédimentation passive. Propulsées par le battement des cils marginaux du vélum, les larves peuvent, lorsque les conditions hydrodynamiques le permettent, réguler leur position verticale dans la colonne d'eau et ainsi optimiser leur alimentation. Une distribution agrégative des larves est d'ailleurs souvent mentionnée et mise en relation avec la concentration de la ressource trophique. Raby et al. (1994) ont démontré que les mouvements verticaux des pédiveligères sont associés à des phases d'alimentation intensive qui interviennent surtout la nuit. Le jour, les larves seraient moins

actives et les phases de sédimentation seraient plus longues et fréquentes. En fonction de leur stade de développement, les larves répondent différemment aux facteurs environnementaux tels que la lumière, la gravité et la pression hydrostatique (Tableau 2; Bayne 1963, 1964b), mais aussi la température. Globalement, l'influence cumulée de ces facteurs conduit à un changement ontogénique de la position verticale des larves dans la colonne d'eau : les véligères semblent se maintenir plus près de la surface que les pédivéligères (Bayne 1976), même si une migration de ces-dernières vers la surface est observée pendant la période de fixation (Dobretsov & Miron 2001).

Tableau 2: Sommaire des réponses comportementales à la lumière, la gravité et la pression chez les larves de *Mytilus edulis*.

Stade larvaire	Stimuli environnementaux		
	Lumière	Gravité	Pression
Trochophore	0	0	0
D-Veligère	–	0	0
Umbo-Véligère	+++	0	+++
Larve oeuillée	++	--	+
Pédivéligère (nageant)	--	+	0
Pédivéligère (rampant)	---	--	0

0 : pas de réponse ; – : réponse négative ; + : réponse positive
Extrait et traduit de Bayne (1976).

Dans le pelagos, les larves pédivéligères peuvent déployer leur pied et rétracter leur vélum afin de chuter sur le fond où elles commencent à ramper. Lorsque les conditions sont favorables (voir la section suivante), les larves se fixent au substrat à l'aide d'un filament byssal unique (Lane & Nott 1975) et amorcent leur métamorphose en post-larves.

La métamorphose et les facteurs impliqués

Bayne (1965) définit la métamorphose par les changements intervenant entre la première sécrétion de byssus et la sécrétion d'une nouvelle coquille appelée « dissoconch », ce qui se produit environ 48 heures après la fixation de la pédivéligère. Cette étape critique du développement implique la désintégration du vélum par phagocytose (achevé 24–72 heures après la sécrétion du byssus), la formation des palpes labiaux et la

réorientation des organes de la cavité du manteau. Les coquilles prodissoconch II et dissoconch ont une minéralogie différente : la première est composée d'aragonite homogène, alors que la seconde est constituée d'un mélange de calcite et d'aragonite (Fuller & Lutz 1988). Une ligne de démarcation entre les deux coquilles est alors bien visible chez les post-larves, constituant ainsi le critère d'identification primaire pour ce stade post-métamorphique (Figure 7).

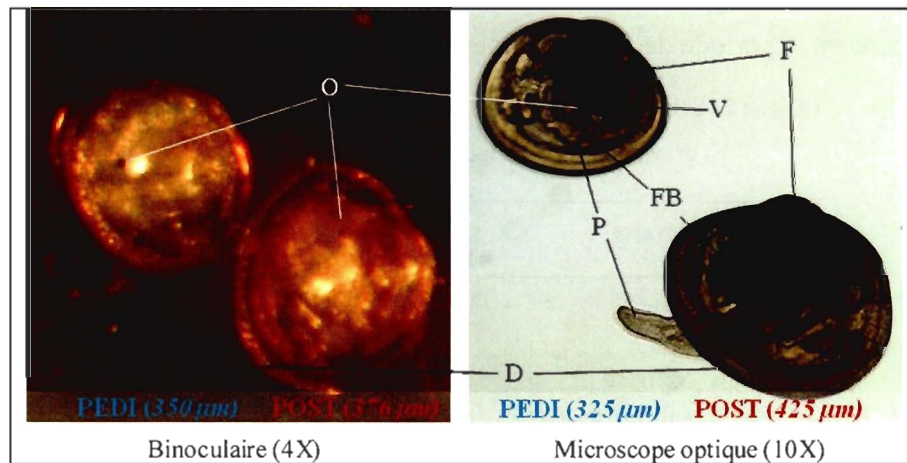


Figure 7: Comparaison visuelle entre une larve pédiveligère et une post-larve de *Mytilus edulis*.

Pedi = pédiveligère, Post = post-larve, O = œil pigmenté, F = foie, V = vélum, FB = filaments branchiaux, D = coquille dissoconch

Bayne (1976) utilise aussi le terme de « plantigrade » (qui marche sur la plante des pieds) pour caractériser les jeunes post-larves qui, contrairement aux juvéniles, ont encore la possibilité de se déplacer considérablement sur le substrat avec leur pied. Par définition, les juvéniles ont les mêmes caractéristiques que les adultes mais sont sexuellement immatures. Selon Bayne (1965), la larve de moule planctonique descend vers le fond et exprime des comportements pré-métamorphiques de prospection du substrat lors de la phase de fixation. Les comportements de nage et de reptation avant la fixation sont communs à l'ensemble des espèces de bivalves. Bourget et al. (1994) suggèrent que la fixation résulte alors d'un choix actif du substrat. Le succès de fixation-métamorphose des jeunes moules dépend de plusieurs facteurs physiques et biologiques (Hunt & Scheibling 1996), dont les principaux sont le chimiotactisme, le type de substrat et l'hydrodynamisme.

La fixation et la métamorphose de moules du genre *Mytilus* dépendent de la perception de signaux chimiques (Cooper 1982) secrétés par les différents organismes benthiques présents sur le substrat prospecté, tels que : les macroalgues (Dobretsov 1999, O'Connor et al. 2006, Dobretsov & Wahl 2008), le biofilm bactérien (Satuito et al. 1995, Bao et al. 2007b) ou les individus con- et interspécifiques (Petersen 1984, von der Meden et al. 2010). Bien que la relation entre l'âge du biofilm et le succès de fixation varie d'une espèce à l'autre, celle-ci a toujours été reportée comme positive chez *Mytilus* (Bao et al. 2007a, Peteiro et al. 2007). En laboratoire, il a été démontré que la métamorphose peut être induite par des produits pharmaceutiques, des composés neuroactifs, des solvants organiques et des chlorures de potassium ou d'ammonium (Satuito et al. 1999, Dobretsov & Qian 2003, Yang et al. 2008), alors qu'elle peut être inhibée par des enzymes protéiques (Dobretsov et al. 2007). D'autre part, la nature et la topographie du substrat jouent un rôle clé dans le succès de fixation-métamorphose : les larves de moule affectionnent les surfaces rugueuses et mouillables (Dobretsov & Railkin 1996), mais aussi les formes filamenteuses telles que les algues ou les filaments byssaux de moules adultes (Bayne 1965, Eyster & Pechenik 1987, Dobretsov & Wahl 2001). Enfin, l'agitation de l'eau favorise leur succès de fixation (Eyster & Pechenik 1987), Pernet et al. (2003a) démontrant une corrélation positive avec les courants advectifs, centrifuges et turbulents.

Retard de la métamorphose et dérive post-larvaire

Lorsque les conditions rencontrées sur le substrat ne stimulent pas la métamorphose, les larves compétentes ont la capacité de décaler cette étape (retard ou "délay" de métamorphose) en se remettant en suspension dans le plancton pour éventuellement pouvoir tester un autre substrat. Les faibles températures sont également susceptibles d'induire un retard de métamorphose chez les larves puisqu'il existe une corrélation inverse entre la température et la taille de la coquille à métamorphose (Prodissoconch II), qui pourrait ainsi constituer un indice paléoclimatique (Jablonski & Lutz 1980, Martel et al. 2000). Chez *M. edulis*, trois stades distincts de larves pédivéligères ont été décrits pour caractériser les modifications anatomiques qui ont lieu au cours du retard de

métamorphose. La plus importante est la phagocytose progressive du vélum, qui commence à dégénérer dès que l'individu atteint 320 μm (stade 2) et qui est totalement réduit chez les individus de 330 μm (Stade 3 ; Figure 8). Ceci implique une réduction progressive de l'activité de nage et d'alimentation au cours du retard, de sorte que chez les larves pédivéligères âgées, la maintenance prime alors sur la croissance. Ce processus permet donc aux larves d'allonger la durée de leur vie pélagique jusqu'à 6 semaines supplémentaires (Bayne 1976). La taille maximale pour une larve pédivéligère en retard de métamorphose est très variable selon les auteurs, puisqu'elle est comprise entre 330 et 405 μm (Bayne 1965, Chanley & Andrews 1971, Flyachinskaya & Kulakovskiy 1992, Raby et al. 1997).

Une fois la métamorphose terminée, les post-larves de moule bleue sont capables de se remettre en suspension dans la colonne d'eau (Figure 5), par ce que l'on nomme la 'dérive bysso-pélagique' ("byssal drifting"; de Blok & Tan-Maas 1976, Sigurdsson 1976). Pour ce faire, les post-larves sécrètent un filament byssal de dérive qui se distingue des filaments d'attachement par une longueur supérieure et l'absence de plaque terminale d'adhésion et de structure interne (Lane et al. 1985). Les post-larves de moule auraient la capacité de se remettre en suspension jusqu'à ce qu'elles atteignent une longueur de l'ordre de 2 mm, taille à partir de laquelle elles entameraient une vie benthique plus stricte. Récemment, Shanks et Shearman (2011) ont montré, chez *Mytilus* spp., que les post-larves en dérive bysso-pélagiques sont plus abondantes lors de la plongée des masses d'eau ("downwelling") que lors de la remontée ("upwelling"). Cela suggère une influence des paramètres environnementaux sur le taux de remise en suspension des post-larves.

De plus, un changement de comportement au cours de l'ontogénie post-larvaire est fréquemment évoqué pour expliquer la sélectivité du substrat (Seed 1969). Dans sa théorie de fixations primaire et secondaire, Bayne (Bayne 1964a, Bayne 1976) décrit une affinité particulière des larves pour les substrats filamenteux telles les algues, puis une attirance préférentielle des post-larves en dérive bysso-pélagique pour des surfaces plus adaptées à une vie sédentaire, comme une moulière par exemple.

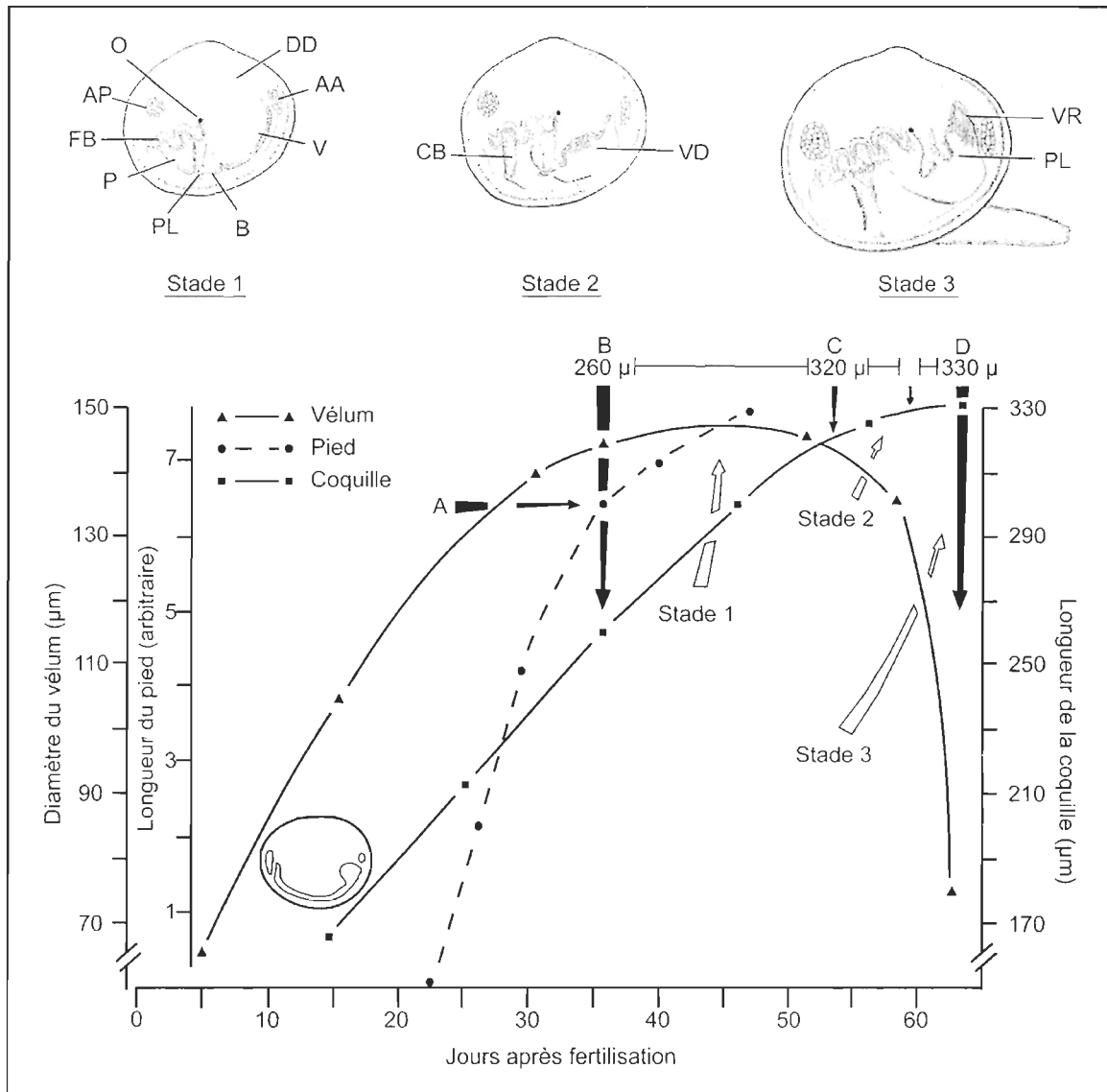


Figure 8: Modifications morphologiques d'une larve de *Mytilus edulis* au cours du retard de métamorphose (Stades 1 à 3).

Traduit et adapté de Bayne (1965). O = œil, AP = muscle adducteur postérieur, FB = filament branchial, P = pied, PL = palpe labial, B = bouche, V = vélum, AA = muscle adducteur antérieur, DD = diverticule digestive, CB = conduit byssal, VD = vélum en dégénération, VR = vélum réduit.

Courbes de croissance obtenues à 13 °C. A : le pied devient fonctionnel, B : la larve est capable de se métamorphoser, C : le vélum commence à dégénérer, D : taille larvaire maximale.

Pourtant, la diversité des scénarios observés en milieu naturel pousse à nuancer cette hypothèse (Petersen 1984, Fell & Balsamo 1985, McGrath et al. 1988, Reaugh et al. 2007) tant et si bien que certains auteurs suggèrent qu'un tel processus repose plus sur des phénomènes stochastiques que sur un réel comportement de sélection (Caceres-Martinez et al. 1994). Néanmoins, d'autres auteurs apportent des éléments qui confortent la théorie de Bayne, tel qu'Erlandsson et al. (2008) qui démontrent un changement ontogénique du choix du substrat chez les post-larves âgées de *Perna perna*. Pour leur part, Dobretsov & Wahl (2008) ont montré un phénomène équivalent en rapport avec l'hydrodynamisme en couche limite benthique : les larves se fixeraient initialement dans des zones de faible courant pour ensuite se redistribuer dans des secteurs où l'hydrodynamisme serait plus intense.

L'alimentation des larves

Tel qu'énoncé précédemment, le cycle de développement larvaire de *Mytilus edulis* commence par une phase lecithotrophe pour l'embryon et la larve trochophore, qui utilisent alors des nutriments stockés dans le vitellus. Constituants principaux des réserves énergétiques des œufs, les protéines et les lipides représentent classiquement 45 et 22 % du poids sec total (Sedano et al. 1995). Néanmoins, l'état physiologique des géniteurs au moment de la ponte détermine leur contenu, et influence ainsi le développement des jeunes larves lecithotrophes (Bayne et al. 1975, Bayne et al. 1978). Bien qu'un stress trophique chez les géniteurs n'entraîne pas forcément le développement de larves anormales, cela peut avoir une influence sur le nombre d'œufs émis ainsi que sur la taille des jeunes larves (Pronker et al. 2008). Le passage à l'étape de croissance, qui se traduit par le début de l'alimentation suspensivore chez la larve, était considéré jusqu'à l'étude de Sprung (1984a) comme instantané, sans régime de transition. Lucas et al. (1986) en ont toutefois précisé la chronologie en montrant que, chez des larves élevées à 17–20 °C, la phase d'endotrophie stricte ne dure que deux jours et qu'une période de mixotrophie précède l'exotrophie les six jours suivants (Figure 9). Ces auteurs ont ainsi montré qu'au cours des premiers jours de développement, les larves bénéficient de plusieurs sources de nourriture, telles que le vitellus et le plancton.

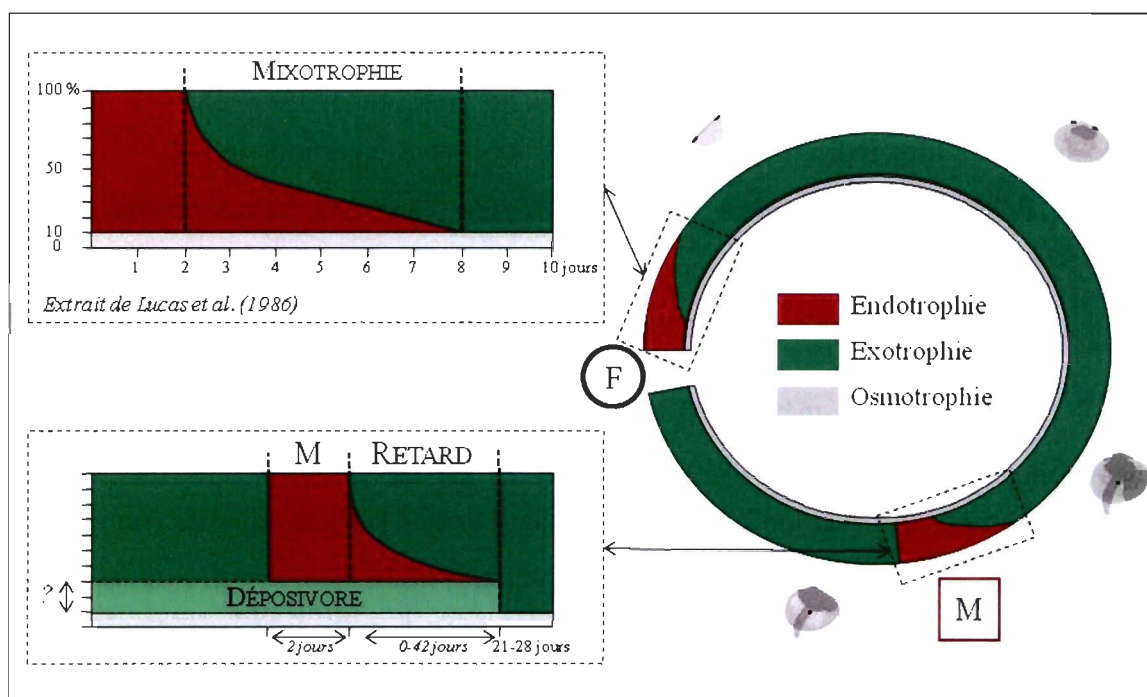


Figure 9: Proportion de diverses sources de nourriture organique chez les larves de *Mytilus edulis*.

F = fécondation; M = métamorphose. Le cycle de développement larvaire dure 21-28 jours; le retard de métamorphose peut durer 42 jours et s'accompagne d'une capacité décroissante à s'alimenter sur le plancton; au cours de la métamorphose l'alimentation suspensivore est nulle pendant 2 jours; l'alimentation dépositivore opère dès que le pied est fonctionnel et son importance est inconnue.

La capture et la sélection des particules alimentaires planctoniques est réalisée par le vélum que caractérisent deux bandes de cils marginaux situées de chaque côté de la bouche. Outre son rôle dans la locomotion, la bande préorale génère le courant d'alimentation : les cils se déplacent plus vite que les particules selon un rythme métachronal (signal sinusoïdal) qui permet leur capture (sélection passive) et leur transport jusqu'à la bouche. La bande post-orale est pourvue de cils plus courts qui battent plus lentement, ralentissant le courant autour de la bouche (Strathmann & Leise 1979). C'est donc le gradient de vitesse entre les deux bandes qui permettrait la rétention de la nourriture (Jorgensen 1981). De plus, il existe une sélection active des aliments par la bouche en fonction du niveau de satiété, mais aussi par l'estomac et la glande digestive en fonction de la digestibilité des aliments. Les taux de filtration et d'ingestion dépendent de la taille et de la concentration

des particules, de la taille larvaire, mais aussi de la température (Bayne 1983), ce qui explique la grande variabilité des valeurs mentionnées dans la littérature pour les larves de moule bleue. A titre indicatif, des taux de filtration et d'ingestion de 4–61 $\mu\text{L}/\text{h}$ et de 18–408 cellules/h, respectivement, ont été observés chez des larves mesurant entre 120 et 250 μm , maintenues à des températures entre 6 et 18 °C et des concentrations en *Isochrysis sp.* de 1 à 5 cellules/ μL (Sprung 1984b).

L'étape de fixation-métamorphose est une phase critique pour le développement puisqu'elle requiert une grande quantité de réserves énergétiques tandis que les individus ont une capacité d'alimentation limitée voire nulle. Lorsque les pédivéligères retardent leur métamorphose, leur vélum dégénère progressivement tandis que la paire de bourgeons branchiaux ne semble pas efficace car les mouvements des cils sont sporadiques et non coordonnés (Bayne 1965). Une fois la métamorphose initiée, le vélum est totalement phagocyté et les besoins métaboliques seraient assurés par les nutriments stockés dans les réserves énergétiques (Bayne 1976). Les branchies et palpes labiaux deviennent fonctionnels 48 heures après le début de la métamorphose (Bayne 1971), permettant ainsi aux post-larves de s'alimenter sur le plancton. Toutefois, l'efficacité de capture des particules semble réduite comparée à celle observée chez les adultes. En effet, de récents travaux menés sur l'ontogénie des branchies chez *M. edulis* ont confirmé les observations de Bayne en montrant que les mécanismes 'adultes' de capture des particules ne sont morphologiquement possibles que lorsque les post-larves atteignent 2 mm (Cannuel et al. 2009). Ainsi, les individus en cours de métamorphose ne s'alimentent pas sur le plancton et les stades peri-métamorphiques ne peuvent que partiellement tirer profit de cette ressource (Figure 9).

Cependant, les jeunes moules bénéficient d'autres modes d'alimentation qui pourraient constituer de réelles alternatives pour assurer un minimum d'apports trophiques durant cette période transitoire. D'une part, les moules peuvent absorber de la matière organique dissoute (DOM) *via* l'osmotrophie (Courtright et al. 1971, Stephens 1981). L'assimilation efficace d'acides aminés naturels a été démontrée chez *M. edulis*, dont les

larves ont une capacité d'absorption plus élevée que les adultes, assurant ainsi près de 10 % de leurs synthèses protéiques (Manahan & Crisp 1982, Manahan et al. 1982, Melaouah 1990). Les sites majeurs de transport de la DOM sont le vélum chez les larves, les bourgeons branchiaux chez les larves pédivéligères et les branchies chez les post-larves (Manahan 1990). Ce mode d'alimentation fournit aux larves une source énergétique supplémentaire, qui pourrait s'avérer importante lorsque les réserves vitellines et/ou la disponibilité en phytoplancton sont faibles (Manahan & Crisp 1982, Manahan & Richardson 1983).

Par ailleurs, les post-larves de bivalve nouvellement métamorphosées peuvent bénéficier d'une alimentation déposévore *via* l'utilisation de leur pied (Caddy 1969, Bayne 1971, Aabel 1983). King (1987) caractérisa ce mode alimentaire de « pedal-palp feeding », impliquant l'utilisation du pied et des palpes labiaux. Plusieurs mécanismes semblent opérer en fonction de la mobilisation relative du pied. D'une part, le mouvement seul des cils du pied induit un courant inhalant dans la partie antérieure de la cavité palléale, acheminant ainsi les particules jusqu'aux palpes labiaux. Dans cette situation, le pied peut rester immobile ; on parle d'« interstitial pedal feeding » (Lopez & Holopainen 1987) dont la définition se trouve à la limite entre l'alimentation suspensivore et déposévore. D'autre part, les particules du film benthique sont collectées directement par le propodium (partie distale ciliée du pied) et transférées aux palpes labiaux dans un mucus sécrété par les mucocytes du pied ; on parle alors de « pedal probe-feeding » (Reid et al. 1992). Lors de travaux menés chez *Villosa iris* (moule d'eau douce), Yeager et al. (1994) ont observé deux comportements alimentaires déposévres qui opèrent en fonction du type de particule présent sur le film benthique : le « pedal-sweep » est employé à la collecte de micro-algues, tandis que le « pedal-locomotory » est actif en présence de détritus (Figure 10).

Considérant l'efficacité potentiel du « pedal feeding », plusieurs études insistent sur l'importance du mode d'alimentation déposévore à cette étape critique du développement (Beninger et al. 1994, Gatenby et al. 1996, O'Beirn et al. 1998, Beck & Neves 2003). Particulièrement, Ó Foighil et al. (1990) ont démontré chez *Patinopecten yessoensi*

l'importance de l'épiflore sur le substrat de fixation même si sa valeur nutritive reste inférieure à celle d'une ressource trophique planctonique. Gatenby et al. (1997) ont confirmées cette tendance en montrant qu'une post-larve de *Villosa iris* peut se développer près de 140 jours en s'alimentant sur le substrat, mais que l'ajout de nourriture supplémentaire telles que des micro-algues d'algues est nécessaire à la survie. Il s'agit donc d'un mode d'alimentation complémentaire qui permettrait l'acquisition d'un minimum d'énergie lors du passage de la vie planctonique à la vie benthique (Veniot et al. 2003).

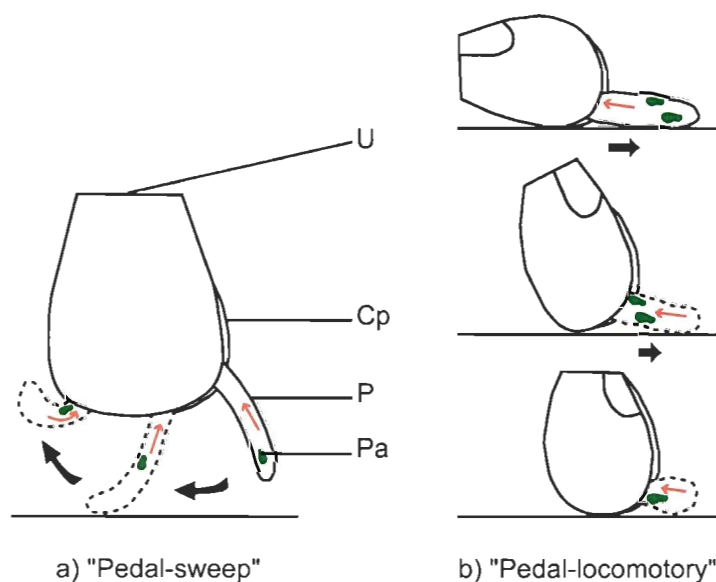


Figure 10: Comportements d'alimentation dépositore chez les juvéniles de *Villosa iris*.

Adapté et traduit de Yeager et al. (1994). a) « pedal-sweep » ou balayage avec le pied, opérant de la partie postérieure vers la partie antérieure de l'animal, et b) « pedal-locomotory » ou locomotion avec le pied (= reptation). U = umbo, Cp = Cavité palléale, P = pied, Pa = particule (en vert). Les flèches noires indiquent le mouvement effectué par le pied, tandis que les rouges montrent le déplacement des particules collectées.

Peu de données existent quant à l'importance relative du « pedal feeding » chez *Mytilus edulis* et à la quantité d'énergie acquise par ce processus. Toutefois, les travaux de Cannuel et al. (2009) démontrent bien l'acquisition progressive d'une alimentation suspensivore efficace et suggèrent que le « pedal feeding » opère chez les jeunes post-larves, mais aussi chez les pédivéligères en retard de métamorphose, dont le pied est déjà

pourvu de cils (Figure 11). En résumé, les stades péri-métamorphiques de moule bénéficient de 3 modes d'alimentation différents (suspensivore, dépositivore, osmotrophe ; Figure 9).



Figure 11: Cils du pied (flèche rouge) chez une grosse pédiveligère de *M. edulis* (384x336 μm).

Les larves de *M. edulis*, dont la taille est comprise entre 150 et 170 μm , ont un taux optimal de rétention pour des particules dont la gamme de taille s'étend de 2,5 à 3,5 μm tandis que les particules dont la taille $< 1 \mu\text{m}$ ou $> 8-9 \mu\text{m}$ ne sont pas ingérées (Riisgard et al. 1980). Raby et al. (1997), renouvelant l'expérience avec des larves plus âgées (175–405 μm), ont montré qu'elles s'alimentaient sur des cellules planctoniques dont le spectre de taille couvrait 1 à 25 μm avec un préférendum majeur pour les flagellés $< 5 \mu\text{m}$. Principalement représenté par des flagellés « nus », l'ultraplancton ($< 5 \mu\text{m}$) constitue une ressource trophique à forte valeur pour les larves de bivalve (Jorgensen 1981). C'est pourquoi, tout naturellement, les « diètes » algales utilisées en éclosérie sont majoritairement constituées de petites cellules autotrophes telles que les flagellés *Isochrysis galbana* et *Pavlova lutheri* et/ou les diatomées *Chaetoceros calcitrans* et *Thalassiosira pseudomonas* (Helm et al. 2006). En réalité, les larves de moule sont omnivores puisqu'elles s'alimentent aussi de cyanobactéries (Raby et al. 1997) et de bactéries (Martin & Mengus 1977), qui peuvent pourtant être considérées comme trop petites pour être

ingérées ($< 1-2 \mu\text{m}$). En vieillissant, les larves réduisent leur consommation relative en petites cellules et se nourrissent de plus en plus de cellules comprises entre 15 et 25 μm (Raby et al. 1997). En résumé, les larves de moule sont omnivores et se nourrissent principalement de particules $< 5 \mu\text{m}$.

Influence des conditions environnementales sur le développement larvaire

Comme chez tous les poïkilothermes, la température et la salinité sont les facteurs exogènes les plus importants dans le contrôle du développement puisque des conditions dépassant les seuils de tolérance sont létales pour l'organisme. Chez *Mytilus edulis*, les gammes de tolérance thermo-haline sont de 5–22 °C et 15–40 ppm pour la fécondation, et 10–25 °C et 15–40 ppm pour la croissance larvaire (Bayne 1965, Hrs-Brenko & Calabrese 1969, Bayne 1976). En outre, il existe une interaction entre la salinité et le génotype (Innes & Haley 1977) : divers génotypes s'expriment dans un environnement halin très fluctuant et les conditions auxquelles sont soumis les adultes influencent la tolérance des larves qu'ils produisent. La gamme thermo-haline optimale pour la croissance est nettement plus réduite que celle pour la survie et, contrairement à d'autres espèces de bivalve, l'interaction entre la température et la salinité est négligeable (Lough 1974). En fait, la moule bleue tolère un tel spectre de salinité qu'à 20–35 ppm la croissance est uniquement reliée à la température (Hrs-Brenko & Calabrese 1969). La température optimale pour le développement larvaire s'établit entre 17 et 24°C chez *M. edulis*, qui semble subir l'effet sélectif de ce paramètre avant la métamorphose (Rayssac et al. 2010). Toutefois, les jeunes larves véligères de *M. edulis* (150 μm) semblent avoir un seuil de tolérance thermique encore plus bas puisqu'elles peuvent vivre à 5 °C pendant 2 mois dans le pélagos ; le taux de croissance est alors extrêmement réduit, mais cela n'affecte pas la métamorphose des survivants (Beaumont & Budd 1982).

Les conditions trophiques constituent le deuxième facteur le plus important dans le contrôle du développement larvaire et, lorsque les conditions thermo-halines et trophiques sont optimales, la période de vie pélagique est inférieure à 20 jours (Sprung 1984a, b). La

concentration de cellules phytoplanctoniques peut constituer un facteur limitant au taux de croissance des larves (Bayne 1965, Jespersen & Olsen 1982, Bayne 1983). Pechenik et al. (1990) ont observé des taux de croissance pouvant atteindre 8 $\mu\text{m}/\text{jour}$ lorsque les conditions trophiques et thermiques sont élevées. Ces auteurs ont également constaté que la concentration en nourriture n'a pas d'influence sur la durée du retard de métamorphose. Il s'avère que si de bonnes conditions trophiques peuvent améliorer la croissance, les périodes de restriction alimentaire ne semblent pas affecter la survie des larves de moule bleue. Bayne a maintenu des larves vivantes en situation de jeûne pendant 20–30 jours à 15–16 °C et Sprung a réussi à les conserver pendant plus de 150 jours dans de l'eau stérile à 12 °C (revue de Lutz & Kennish 1992). Pour les larves véligères, ce jeûne se traduit par une diminution des composés majoritaires soit, les protéines et les lipides (Holland 1978). Les larves possèdent donc une grande capacité à survivre lorsque la ressource trophique est limitée ; elles consomment alors principalement leurs réserves en lipides qui sont plus énergétiques que les protéines (Crisp 1974). L'historique trophique et physiologique des larves a un effet à retardement puisqu'elle affecte surtout les stades post-métamorphiques. Phillips (2002, 2004) a démontré chez *Mytilus galloprovincialis* une relation positive entre la qualité trophique et larvaire et la croissance post-larvaire. Toutefois, aucune relation n'a été mise en évidence entre la condition larvaire et le nombre d'individus fixés (Phillips 2006), même si Pernet et al. (2004) ont observé que la quantité de réserves lipidiques des larves pré-métamorphiques explique 28 % de la survie au cours de la fixation chez *Mytilus* spp.

La plupart des travaux étudiant l'influence de la ressource trophique sur le développement larvaire sont menés en laboratoire et fournissent souvent des résultats divergents car les conditions expérimentales ne sont jamais identiques. De plus, de tels résultats ne sont pas représentatifs des conditions naturelles, qui peuvent être plus favorables pour le développement que les conditions contrôlées (Phillips 2002). Par exemple, Jorgensen (1981) suggère que la demande énergétique des larves de moule ne représente qu'une faible proportion de la production primaire estivale. De plus, les différents modes d'alimentation dont les larves bénéficient et la plasticité potentielle de la

phase pélagique offrent aux jeunes moules une grande capacité d'adaptation face aux variations des conditions environnementales. **Il semble donc nécessaire de mener des études en milieu naturel afin de déterminer quelles conditions larvaires (en terme de quantité et de qualité) assurent la bonne performance des juvéniles et quels mécanismes sont impliqués dans l'influence de ces conditions sur le succès de recrutement alors que d'autres processus opèrent en même temps (Phillips 2006).**

6. OBJECTIFS ET HYPOTHESES

L'objectif principal du présent projet est de déterminer, en milieu naturel, l'influence de la qualité de la ressource trophique sur le succès de recrutement de la moule bleue, *Mytilus edulis* (L., 1758). L'étude a été conduite dans le bassin du Havre-Aubert des Îles de la Madeleine (Figure 12), un archipel situé dans la partie sud du Golfe du Saint-Laurent (Canada), une immense mer semi-fermée de 195 000 km². Cet archipel est constitué de six îles principales reliées entre elles par de longs cordons dunaires et des lagunes côtières. Localisées à proximité d'un point amphidromique, les Îles de la Madeleine sont soumises à un régime de marée microtidal, avec de fortes variations des composantes diurnes et semi-diurnes de la marée le long de ses côtes. Le Bassin du Havre-Aubert (BHA ; Figure 13) est une petite lagune côtière de type semi-fermé, située au sud-ouest de l'archipel, qui communique avec les eaux extérieures par un petit chenal sur la façade sud. Le BHA a une surface approximative de 3 km², une profondeur moyenne de 2–3 m et le marnage moyen est de 0,4 m avec de fortes inégalités dans la composante diurne de la marée. Les forces météorologiques, telles que le vent et la pression atmosphérique, ont une forte influence sur le niveau d'eau dont les fluctuations sont du même ordre de grandeur que celles induites par la marée (Koutitonsky & Booth 1996). En général, ce type de lagunes ne connaît que des variations réduites d'amplitude et le mélange des eaux douces avec les eaux salées se fait généralement bien en raison des faibles profondeurs (habituellement non stratifiées). Les eaux de lagune sont caractérisées par une salinité variable dans le temps et l'espace (apports en eau de mer, en eau douce, évaporation) et une température qui varie peu verticalement et qui suit la température de l'air (Paskoff 2010).

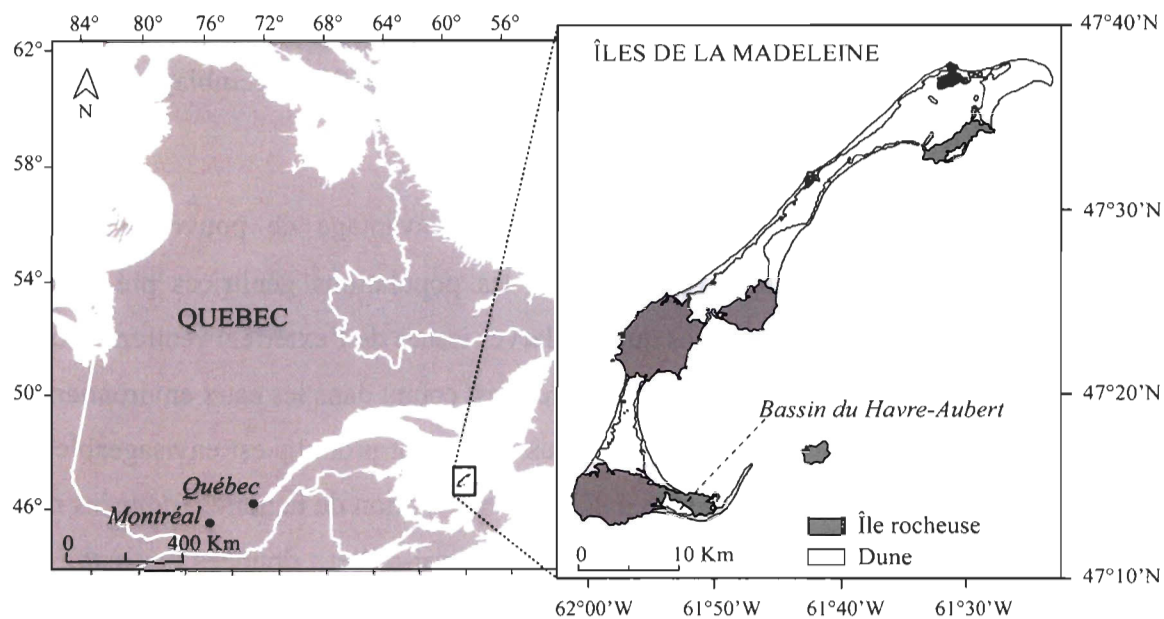


Figure 12: Localisation du site d'étude.



Figure 13: Photographie satellite du Bassin du Havre-Aubert.

(Source: Google Imagery 2011).

Depuis 1991, le BHA est le principal site de captage en naissain de moule sur l'archipel car les juvéniles captés sont considérés de qualité nettement supérieure que ceux issus des autres lagunes : la taille moyenne du naissain est supérieure à l'automne

(reproduction plus tôt en saison) et les individus sont plus résistants aux épisodes de mortalité estivale lors du grossissement (Myrand & Gaudreault 1995, Tremblay et al. 1998, Myrand et al. 2000, Myrand et al. 2002).

La conformation géographique du BHA offre l'avantage de pouvoir suivre le recrutement des cohortes larvaires produites par les populations génitrices présentes à l'intérieur de la lagune. Les probabilités que des larves issues de l'extérieur rentrent dans la lagune sont minimales car aucun gisement de moule n'est connu dans les eaux environnantes. A l'inverse, une certaine exportation des individus qui y sont produits est envisageable car 90 % de la masse d'eau se renouvelle en 8 à 20 jours en fonction de la marée (données non-publiées). De plus, la courte période de reproduction (mai-juillet ; données non-publiées) permet de suivre toutes les différentes cohortes larvaires de l'année en une seule saison d'échantillonnage. Ainsi, le BHA représente un véritable bassin expérimental qui permet d'étudier les mécanismes impliqués dans le recrutement dans des conditions naturelles, intégrant ainsi la phénologie des composantes trophiques et environnementales. En outre, les lagunes côtières des Îles de la Madeleine ont la particularité d'être oligotrophes : les concentrations en nutriments y sont faibles et le réseau trophique est basé sur une production hétérotrophe avec quelques épisodes courts et ponctuels de floraisons autotrophes (Trottet et al. 2007). Un réseau trophique basé sur une production hétérotrophe est considéré de moins bonne qualité qu'un réseau basé sur une production phytoplanctonique, puisqu'il induit une déficience de productivité au sein des niveaux trophiques supérieurs (Berglund et al. 2007). D'un point de vue énergétique, les hétérotrophes présentent un déficit en PUFA, et particulièrement en EFA, qui sont reconnus comme indispensables pour un développement larvaire optimal (*cf.* section 4 de cette introduction). Par conséquent, le BHA s'avère être un site adéquat pour tester le rôle des EFA en suivant la qualité de la ressource trophique et des jeunes moules.

La qualité de la ressource trophique disponible pour les larves conditionne le succès de recrutement en agissant sur la performance des stades larvaires et post-métamorphiques. Nous pouvons donc raisonnablement envisager qu'un réseau trophique dominé par les

bactéries lors de la période de reproduction induise un mauvais recrutement de *Mytilus edulis*. En cas de retard de métamorphose larvaire, de telles conditions pourraient s'avérer beaucoup plus préjudiciables, particulièrement pendant la phase de fixation-métamorphose. Cette étape critique du développement nécessite en effet l'acquisition au préalable d'une quantité d'énergie suffisante et sa réussite est une condition *sine qua non* pour le succès de recrutement. Par ailleurs, nous avons vu que le biofilm est un des facteurs les plus étudiés actuellement car inducteur majeur des comportements de fixation. Cependant la majorité des travaux concernent les mécanismes impliqués dans le chimiotactisme alors que peu d'études traitent de la fonction écologique du biofilm pour les jeunes moules. Les jeunes moules peuvent être ponctuellement dépositivores (*via* l'utilisation du pied), ce qui donne au biofilm un rôle nutritif potentiel majeur quand l'alimentation dans le plancton (alimentation suspensivore) est réduite voire nulle. Finalement, le comportement de fixation joue un rôle clef dans la sélection de l'habitat, peu important les conditions trophiques et physiologiques des larves. Le succès de fixation peut donc dépendre de la phénologie des facteurs qui influencent le comportement de sélection d'un habitat propice au bon développement des jeunes stades benthiques. Ainsi, nous pouvons envisager que les individus qui se sont fixés lors du pic de fixation maximale possèdent des conditions physiologiques post-larvaires optimales.

Le présent projet s'articule en trois grands axes de recherche qui concernent la qualité de la ressource trophique disponible et son influence sur la fixation et les conditions physiologiques des jeunes recrues de moule bleue :

Chapitre 1 : Match/mismatch entre le stock larvaire de Mytilus edulis et la qualité du seston : effet sur le recrutement;

A partir de la théorie du « match/mismatch » énoncée par Cushing (1990), nous envisageons qu'un asynchronisme entre la production des larves et celle d'une nourriture à forte valeur nutritive pourrait affecter le succès du recrutement de la moule bleue. L'objectif est donc de suivre simultanément le développement larvaire (ponte, abondance des véligères et pédivéligères, taux de fixation-métamorphose, recrutement) et les

conditions trophiques (quantité et teneur en acides gras), pendant deux années successives (2007 et 2008) afin d'examiner la constance des phénomènes observés. Dans ce premier chapitre, nous posons les hypothèses que la concentration en EFA dans le seston influence le succès de fixation (H1) et le succès de recrutement (H2). L'article issu de ce chapitre a été soumis au journal *Ecology* le 29 juin 2011, et accepté pour publication le 13 octobre 2011.

Chapitre 2 : Effet de l'âge du biofilm sur la fixation de Mytilus edulis;

Considérant le fait que le biofilm pourrait constituer une ressource trophique conséquente *via* une alimentation dépositore, nous envisageons que la relation entre le succès de fixation et l'âge du biofilm dépende de sa valeur nutritive. L'objectif est donc de conditionner trois âges de biofilm (1, 2 et 3 semaines) pour tester leur effet sur le taux de fixation (3 essais en 2008 et 1 en 2009) à différents moments au cours de la saison. De plus, l'expérience de 2009 prévoit une caractérisation très fine de la dynamique de mise en place du biofilm (quantité et teneur en acides gras) dans le but d'identifier le(s) composant(s) impliqués. Dans ce deuxième chapitre, nous posons alors les hypothèses que le taux de fixation augmente avec l'âge du biofilm (H1) et plus particulièrement, avec son contenu en EFA (H2). L'article issu de ce chapitre est destiné à être soumis au journal *Biofouling* (printemps 2012).

Chapitre 3 : Variations spatio-temporelles de la fixation et conditions physiologiques des post-larves de moule.

Assumant que les larves intensifient leur fixation lorsque les conditions les plus adéquates sont réunies pour le début de la vie benthique, nous envisageons que les larves retardent leur métamorphose en l'absence de ces conditions. Ainsi, si les conditions sont optimales lors du pic de fixation maximale, les post-larves fixées à ce moment auraient pu bénéficier de meilleures conditions physiologiques que celles fixées à d'autres moments dans la saison. L'objectif est donc de suivre conjointement le développement ontogénique (concentration des véligères, pédivéligères, et post-larves ; taux de fixation des pédivéligères et post-larves ; recrutement) et la qualité des post-larves (classes de lipides et

acides gras), au cours d'une saison de reproduction (2008). De plus, nous étudions la variabilité spatiale du développement ontogénique à petite échelle dans le but de déterminer si la phénologie de la fixation varie au sein d'un site aussi restreint que le BHA. Dans ce troisième chapitre, nous posons les hypothèses que les concentrations larvaires et la fixation sont très variables à petite échelle spatiale (H1), que le retard de métamorphose et la dérive bysso-pélagique sont à la source du découplage benthopélagique (H2), et que les post-larves sont en meilleures conditions physiologiques lors du pic de fixation (H3). L'article issu de ce chapitre est destiné à être soumis au journal *Marine Ecology Progress Series* (été 2012).

CHAPITRE 1

MATCH/MISMATCH ENTRE LE STOCK LARVAIRE DE *MYTILUS EDULIS* ET LA QUALITE DU SESTON : EFFET SUR LE RECRUTEMENT

Ce premier article, intitulé « *Match/mismatch between the Mytilus edulis larval supply and seston quality : effect on recruitment* », fut corédigé par moi-même, les professeurs Bruno Myrand, Fabrice Pernet, Frédéric Olivier et Réjean Tremblay, ainsi que mes collègues François Bourque et Lisandre Gilmore-Solomon. Soumise au journal *Ecology* en juin 2011, la version présentée ici fut acceptée pour publication avec modifications mineures en octobre 2011. En tant que premier auteur, ma contribution à ce travail fut l'essentiel de la recherche sur les concepts écologiques du recrutement, l'élaboration du plan d'échantillonnage, la réalisation des campagnes de terrain, les analyses en laboratoire, le traitement statistique des résultats et la rédaction de l'article. De concert, les professeurs B. Myrand, F. Pernet, F. Olivier et R. Tremblay ont fourni l'idée originale. Ils ont aidé à la définition de la problématique, à l'élaboration du plan d'échantillonnage ainsi qu'à la révision de l'article. Mademoiselle L. Gilmore-Solomon et monsieur F. Bourque ont contribué à l'échantillonnage sur le terrain et à l'acquisition des données en laboratoire. Différents éléments de cet article ont été présentés dans plusieurs conférences nationales et internationales : le *Regroupement des Mariculteurs du Québec (RMQ)* à Québec (Canada) en mars 2008, le colloque annuel du *Réseau Aquaculture Québec (RAQ)* à Québec (Canada) en novembre 2008, les 2^{nde} et 3^{ème} éditions de *Physiomar : marine mollusc physiology conference* à Brest (France) et Québec (Canada) en septembre 2008 et novembre 2010, respectivement, ainsi que le colloque annuel de l'*Aquaculture Association of Canada (AAC)* à Québec (Canada) en mai 2011.

1.1 RÉSUMÉ

Considérant la théorie du « match/mismatch » de Cushing dans un environnement hétérotrophique tel que les lagunes des Îles de la Madeleine, nous avons posé l'hypothèse que le taux de fixation et le recrutement seraient plus élevés lorsque la ressource trophique est riche en PUFA/EFA. Nous avons suivi le développement des larves de moule bleue ainsi que la qualité de leur nourriture au cours de deux saisons de reproduction successives (2007 et 2008). Les résultats suggèrent un important retard de métamorphose, puisque le taux maximal de fixation a été observé bien après le pic de concentration de larves compétentes (pédivéligères) dans la colonne d'eau. Chaque année, le pic de fixation fut synchrone avec un bloom de phytoplancton riche en EFA, caractérisé par des picoeucaryotes ($< 2\mu\text{m}$) en 2008. Ces résultats suggèrent l'existence d'un déclencheur trophique de la fixation (« trophic settlement trigger », TST), qui influence indirectement le succès de recrutement en synchronisant le pic de fixation. De plus, malgré des taux de fixation saisonniers équivalents au cours des deux saisons, le recrutement inférieur en 2007 serait relié à un « mismatch » avec une ressource trophique riche en PUFA/EFA. En effet, les profils lipidiques acquis pour le seston étaient représentatifs d'une production planctonique majoritairement hétérotrophe en 2007 et autotrophe en 2008. Complétant la théorie de Cushing (1990), nos résultats montrent que le « match/mismatch » dépend non seulement de la quantité de la ressource trophique, mais aussi et surtout de sa qualité lipidique. Pour la première fois, nous montrons que le recrutement des mollusques bivalves marins dépendrait d'une production phytoplanctonique riche en PUFA.

1.2 MATCH/MISMATCH BETWEEN THE MYTILUS EDULIS LARVAL SUPPLY AND SESTON QUALITY: EFFECT ON RECRUITMENT

Authors:

Nicolas Toupoint¹, Lisandre Gilmore-Solomon¹, François Bourque², Bruno Myrand², Fabrice Pernet³, Frédéric Olivier^{1,4}, Réjean Tremblay¹

Institutions:

¹ Institut des Sciences de la Mer (ISMER) - Université du Québec à Rimouski (UQAR); 310, Allée des Ursulines, CP 3300, Rimouski (Québec), Canada, G5L 3A1.

² Merinov, Centre d'innovation de l'aquaculture et des pêches du Québec, Direction de la production de biomasse, 107-125 chemin du Parc, Cap-aux-Meules (Québec), Canada G4T 1B3.

³ Ifremer, Laboratoire Environnement Ressources; Jean Monnet, BP 171, 34203 Sète Cedex, France.

⁴ Muséum National d'Histoire Naturelle, Département Milieux et Peuplements Aquatiques, UMR 7208 BOREA CNRS/P6/IRD/MNH

ABSTRACT

We considered Cushing's match/mismatch theory in a heterotrophic environment and hypothesized that settlement and recruitment success in blue mussel is higher when the food supply is rich in polyunsaturated fatty acids (PUFA), mainly in essential fatty acids (EFA). To test this hypothesis, we monitored larval development as well as fatty acid (FA) profiles in trophic resources during two successive reproductive seasons. The decoupling we found between the presence of competent larvae in the water column and settlement rates strongly suggests that metamorphosis is delayed until conditions are suitable. The main annual mussel settlement peak in both years was synchronized with a phytoplanktonic pulse rich in essential fatty acids: there was a large autotrophic bloom within a two-week period in 2007 and a short but substantial peak of picoeukaryotes in 2008. These results suggest a 'trophic settlement trigger' that indirectly affects recruitment as the post-settlement success was strongly improved when the settlement peak occurred. Despite similar larval settlement rates during both years, the lower recruitment observed in 2007 likely resulted from a mismatch with a high lipid quality trophic resource. The seasonal trophic conditions differed greatly between the two years, with FA profiles reflecting heterotrophic plankton production in 2007 and mostly autotrophic production in 2008. In agreement with the Cushing's theory, our results highlight a match/mismatch, related to the food lipid quality rather than food quantity. For the first time, we show that the recruitment in marine bivalves may be dependent on phytoplanktonic pulses characterized by high levels of polyunsaturated fatty acids.

Keywords

Mytilus edulis, larval supply, fatty acids, settlement rate, recruitment, picoeukaryotes, trophic settlement trigger, match/mismatch.

INTRODUCTION

The blue mussel (*Mytilus edulis*, L. 1758) has a complex life history, with a dispersive planktonic larval phase lasting for several weeks until settlement and metamorphosis into benthic post-larvae. Metamorphosis requires a high expenditure of energy at a time when individuals have limited feeding ability because their velum has degenerated and their gill ciliature is still undeveloped (Bayne 1971). The energetic requirements must be met by the biochemical reserves accumulated during the larval phase (Videla et al. 1998); these reserves determine both metamorphic success (Pernet et al. 2004) and young juvenile performance (Phillips 2002, 2004).

Lipids constitute a major source of metabolic energy and an essential material for cell and tissue formation (Bergé & Barnathan 2005). Fatty acids (FA) are the main components of lipids, and FA composition reflects the physiological condition of an organism. Marine animal cells can synthesize *de novo* saturated and monounsaturated FA (SFA and MUFA respectively), but biosynthesis of major polyunsaturated fatty acids (PUFA) is impossible or very limited due to the lack or limited activity of specific desaturase and elongase enzymes (see review of Glencross 2009). Consequently, vegetal cells must provide bivalves with the needed PUFA, such as eicosapentanoic (EPA), arachidonic (AA), and docosahexaenoic (DHA) acids; these are commonly considered as essential fatty acids (EFA) in the non *stricto sensu* of the term (Parrish 2008). The structural and metabolic roles of EFA ensure the optimal growth (Langdon & Waldock 1981, Delaunay et al. 1993) and settlement (Soudant et al. 1998, Pernet & Tremblay 2004) of bivalve larvae.

Cushing's match/mismatch theory (1990) was developed to explain variations in herring recruitment success, and it is based on the synchronization between the timing of the larval cycle and prey production. This hypothesis was repeatedly updated and validated on marine invertebrates (Philippart et al. 2003, Bos et al. 2006a, Ouellet et al. 2007). While the match/mismatch theory is classically related to the food abundance (e.g., Durant et al.

2005) and composition (e.g., Beaugrand et al. 2003), we propose here that the success of blue mussel recruitment is linked to the presence of high EFA levels in trophic resources.

Our hypothesis was tested in a coastal lagoon characterized by a trophic food web based mainly on heterotrophic production slightly supplemented by autotrophic nanoplankton production and very short and punctual diatoms blooms (Trottet et al. 2007). Some authors have suggested the ability for *de novo* EFA synthesis in heterotrophic protists (e.g., Bec et al. 2010), but this type of food is generally considered to be of poor dietary value for bivalves due to a low PUFA/EFA ratio (Sargent et al. 1999). With the aim of testing Cushing's match/mismatch theory with the food lipid quality, we monitored the larval development of mussels, their settlement dynamics and their recruitment in parallel with seston characteristics. We tested the hypotheses that the abundance of dietary EFA controlled both settlement (H1) and recruitment (H2) success.

METHODS

Sampling design

The study was carried out in a coastal lagoon (Bassin du Havre-Aubert, BHA) of the Îles de la Madeleine (Québec); this archipelago is located in the Gulf of St. Lawrence (195 000 km²) in eastern Canada. The characteristics of BHA allowed us to easily track the production and recruitment of different cohorts of mussel larvae. BHA is a restricted lagoon of only 3 km² (mean depth 2–3 m) connected to the open sea by a narrow channel in the south (Fig. 14). This area has a microtidal regime (mean tidal range ~ 0.3 m) and wind influence is strong throughout the year. Local wild mussel populations (three beds in the southern part of BHA; Fig. 14) provide the only potential spawners since there are no known populations in the open sea (F. Bourque, personal observations). BHA is the major spat collection site for local mussel culture, but it is not used for mussel grow-out (Fig. 14). Indeed, all collected juveniles are transferred to other growing sites after a maximum of four months on collectors in the water column (shell lengths of 10–30 mm). Larval development and trophic characteristics were monitored during the reproductive period,

from May to August of 2007 and 2008. A large geographical sampling design (basin scale) was used in 2007 while the 2008 design focused on the commercial spat collection sites and integrated microscale spatial variability (Fig. 14).

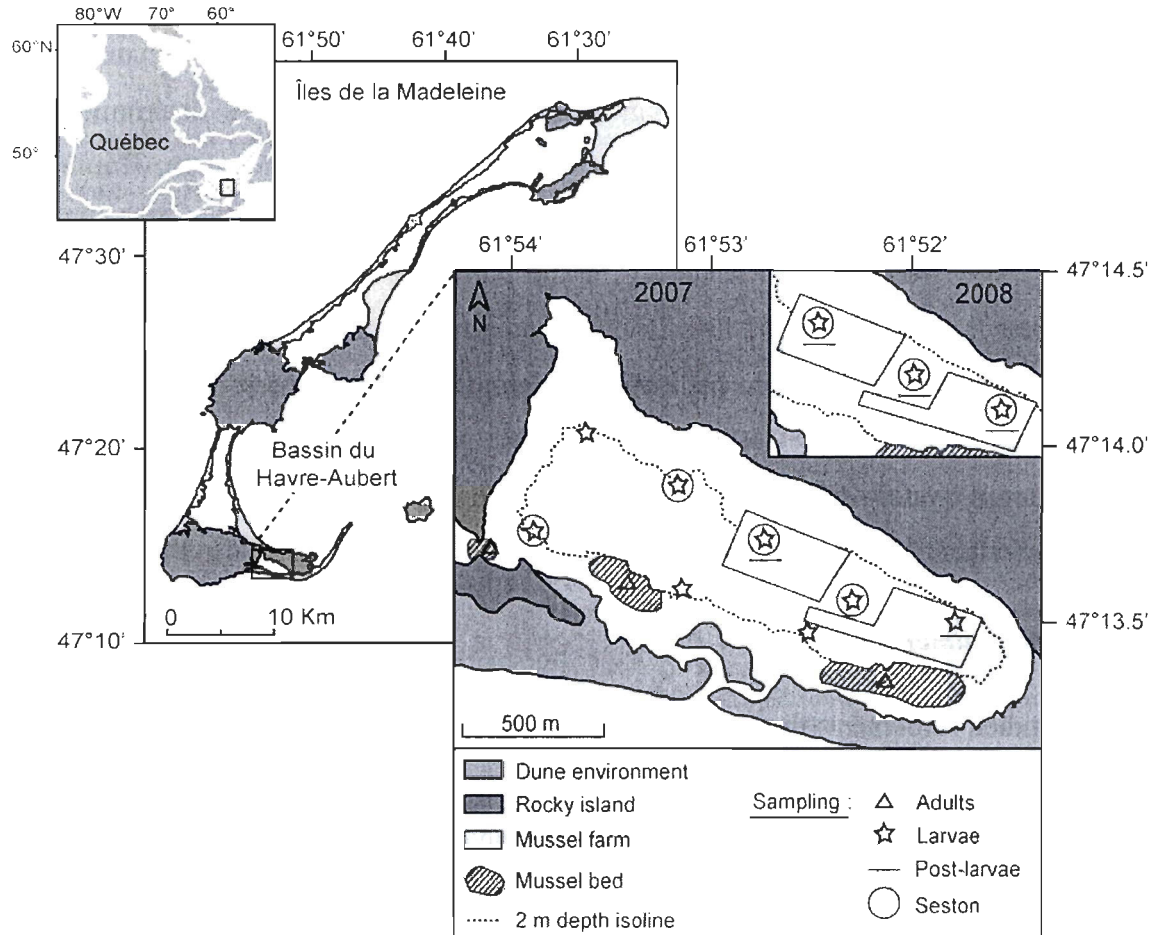


Figure 14: Location and map of 'Bassin du Havre-Aubert' (BHA) showing mussel farms, the natural mussel beds, and the 2007 and 2008 sampling stations.

Larval production

Larval concentration (individuals per litre) was assessed twice a week at eight stations in 2007 ($n = 1$ per station) and at three stations in 2008 ($n = 3$ per station; Fig. 14) using the following technique: seawater (1000 L) was pumped at 0.5–2 m below the surface, immediately sieved (80 μm square mesh), and the retained material was held in

80 μm filtered seawater on ice until larval identification (within 6 hours). Larval abundance was determined according to Aucoin et al. (2004) at a magnification of 100X (upright Olympus BX41, Olympus America Inc., Center Valley, PA, USA). Larvae were separated into two groups according to their competency to settle and metamorphose into post-larvae: i) non-competent veligers (from trochophores to umbo-larvae) and ii) competent pediveligers characterized by a visible eyespot. Mean larval size was determined by measuring 30 randomly selected individuals with an image analyzer system (CoolSnap Procolor and Image-Pro Plus v.5.0, Media Cybernetics Inc., Silver Spring, MD, USA). Four size classes were defined according to the particular larval stage: i) $< 130 \mu\text{m}$ represents new D-shape larvae, ii) $130\text{--}260 \mu\text{m}$ represents the non-competent veligers, iii) $260\text{--}360 \mu\text{m}$ represents competent pediveligers (competency is acquired around $260 \mu\text{m}$; McGrath et al. 1988) and iv) $> 360 \mu\text{m}$ represents late pediveligers. In 2008, we estimated the proportion of byssal-drifting post-larvae, which are characterized by the presence of a dissoconch shell and gills, and considered them to be potential settlers (Lane et al. 1985).

Settlement/recruitment

We studied settlement (the process by which individuals become associated with the substrate) and recruitment (the number of individuals at time t of the benthic life) on collector ropes (polypropylene; 1.27 cm in diameter and 1.33 m in length) suspended from a long-line typically used for mussel culture. Sampling occurred at two stations in 2007 ($n = 5$ per station) and at three stations in 2008 ($n = 3$ per station; Fig. 14). Settlement rate (individuals per meter per day) was monitored by sampling collector ropes once (2007) or twice (2008) a week and ropes were immediately replaced by new ones at each sampling. In 2007, ropes were immersed for a period of two weeks, thus inducing an overlap of one week for successive weekly deployments. Settlement rate was calculated by dividing the post-larval abundance on ropes by the immersion duration in days. Recruitment (individuals per meter) was studied by suspending a batch of 65 collector ropes from a longline at each station in mid-June and sampling them randomly on a weekly basis until the end of August. These samples integrate all post-settlement processes like biological and

physical disturbances, hydrodynamics, physiological stress, predation, and competition (Hunt & Scheibling 1997).

Trophic conditions

Seston (mg/L) and fatty acid (FA; micrograms per milligram of POM) concentrations were determined weekly at four stations in 2007 ($n = 1$ per station) and twice a week at three stations in 2008 ($n = 3$ per station; Fig. 14). Seawater samples (2 L for seston and 2 L for FA) were pumped from 0.5–1 m from the surface and directly filtered through a square mesh sieve (80 μm in 2007 and 20 μm in 2008) before storage in opaque bottles. Mesh size was reduced in 2008 because mussel larvae do not feed on particles larger than 25 μm (Raby et al. 1997). Seawater samples were then filtered on glass-fiber filters (GF/C, Whatman Ltd, Maidstone, UK) and total particulate and particulate organic matter (TPM and POM, respectively) quantified according to Aminot and Chaussepied (1983). Fatty acids (FA) were extracted through direct transesterification (Lepage & Roy 1984), and analyzed on gas chromatograph fitted with flame ionization detector (GC-FID), which was coupled with a mass spectrometer (GC-MS) in 2008 (see Appendix A1 for technical details). The mass of total FA (MTFA) was expressed in micrograms per milligrams of particulate organic matter ($\mu\text{g}/\text{mg}$ of POM) and FA composition by the relative proportion of each fatty acid.

In 2008, the plankton composition was assessed twice a week in every sampling station, by running samples (4.5 mL) of pre-filtered surface water (20 μm square mesh) on flow cytometer (see Appendix A2 for technical details). Six groups of planktonic cells were quantified: heterotrophic bacteria were separated according to their nucleic acid content (LNA and HNA for low and high nucleic acid, respectively), and eukaryotes and cyanobacteria according to the pico (0.2–2 μm) and nano (2–20 μm) size classes (Belzile et al. 2008, Tremblay et al. 2009). Finally, temperature and salinity in 2007 and 2008 were recorded twice a week at 0.5–1 m below the surface at each sampling stations using a manual YSI 30/25 FT sensor (YSI Inc., Yellow Springs, Ohio, USA).

Data analysis

We tested (i) the intra-annual variations of parameters by performing mixed-model repeated ANOVAs based on an autoregressive structure and subsequent pairwise comparisons and (ii) the inter-annual variability through t-tests. The normality was verified by a Shapiro-Wilks test on residuals (i) or on raw data (ii), and homoscedasticity was tested by direct observations of residuals (i) or folded F tests (ii). When assumptions were not met, raw data were transformed, and if assumptions were still not met, conclusions were retained if they agreed with a test on ranked data. Pearson's correlations were calculated between each pair of variables, particularly those including the settlement rate. A multiple regression model (stepwise selection) was computed for the 2008 data to isolate parameter(s) with the highest explanatory power for the variation in settlement rate. SAS v.9.00 software (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) was used for analyses.

RESULTS AND DISCUSSION

Data for both years are expressed relative to Tx, where x is the number of days following the first occurrence of mussel larvae in the water column (T0), which was 16 May in 2007 and 19 May in 2008. In the case of inter-annual comparisons, we present the results as “y vs z”, with y and z corresponding to 2007 and 2008, respectively. As expected, every monitored parameter exhibited significant temporal variations ($p < 0.0001$; see Appendix B1 for detailed results).

Larval production and settlement competency

The mean veliger concentration throughout the season was statistically similar for both years (6 ± 2 vs 4 ± 2 ind/L; Table 3) and characterized by three peaks of abundance in 2007 (T28, T42, and T49) and two in 2008 (T24 and T38, Fig. 15a). The maximum veliger abundances were observed during the first peak, with no significant inter-annual difference (27 ± 15 vs 39 ± 18 ind/L; Table 3). The major veliger peak and a pulse of new larvae at T25–28 in 2007 and T28–31 in 2008 (Fig. 15e) were related to the second spawning event

in both years (see Appendix C), suggesting a low larval survival rate of the larvae during previous spawning event. Several veliger peaks were not statistically significant due to large variations (Fig. 15a), reflecting the high spatial variability either at the basin (2007) or at the scale of the mussel farms (2008), and suggesting an aggregative horizontal distribution at a very small scale. Larval dispersal could be driven by hydrodynamic forces induced by both tides and winds in this type of lagoon (Koutitonsky et al. 2002), but larval behavior could also modify the passive patterns of dispersion since larvae cannot be considered as inert particles (Morgan et al. 2009, Shanks 2009).

During both years, the mean larval length was similar (206 ± 15 vs 196 ± 12 μm ; Table 3), but the biggest individuals were collected in 2007 (range: 125–429 vs 107–356 μm). Significant variations in shell lengths between sampling dates occurred only in 2008 and probably resulted from regular inputs of new mussels at T42, T59, T70, and T81 (Fig 15e).

The first pediveligers (i.e., competent larvae) were observed at T28 in 2007 and T31 in 2008 (Fig. 15b), and their mean seasonal concentrations were similar both years (1.0 ± 0.3 vs 1.0 ± 0.4 ind/L; Table 3). Three peaks of pediveliger abundance were observed in 2007 (T49, T63, and T74) and in 2008 (T35, T52, and T66); again, some peaks were not statistically significant due to high local variability. As we observed with veligers, maximal concentrations were observed at the first peak, with no significant inter-annual difference (4.8 ± 2.3 vs 5.4 ± 2.6 ind/L; Table 3, Fig. 15b), and they occurred within 21 vs 11 days after the major peak of veligers in 2007 and 2008, respectively. The time series of the two larval stage concentrations were moderately vs strongly correlated when pediveliger data were staggered according to the respective previous delays ($\text{Rho} = 0.56$ vs 0.84 , $p = 0.01$ vs < 0.0001).

Table 3: Results of t-tests comparing 2007 and 2008 data in BHA

Dependent variables	t	df	p
<i>Veliger concentration</i>			
sm	-0.38	46.0	0.7070
max	-1.28	9.0	0.2315
<i>Pediveliger concentration</i>			
sm	0.51	30.0	0.6105
max	-0.17	9.0	0.8675
<i>Larval shell length</i>			
sm	0.58	47.0	0.5674
<i>Settlement</i>			
sm	-1.1	13.1	0.2917
max	-1.28	3.0	0.2907
<i>Recruitment</i>			
sm	-2.42	21.0	0.0248
max	-3.06	3.0	0.0552
final	-4.14	3.0	0.0256
<i>Seston</i>			
TPM	-1.24	40.0	0.2225
POM	0.53	40.0	0.5998
POM/TPM	2.36	40.0	0.0231
MTFA	0.01	7.3	0.9891
SFA	10.55	26.0	<0.0001
MUFA	-7.48	7.0	0.0011
PUFA	-6.23	6.8	0.0005
EFA	-14.27	26.0	<0.0001
<i>Environment</i>			
Temperature	-0.99	51.0	0.3275
Salinity	4.27	37.3	0.0001

sm = seasonal mean; max = maximum; final = end of August

TPM and POM = total and particulate organic matter;

MTFA = mass of total fatty acids;

SFA, MUFA, and PUFA = saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids;

EFA = essential fatty acids (= AA + EPA + DHA);

bold p-values indicate significant differences (α -level = 0.05).

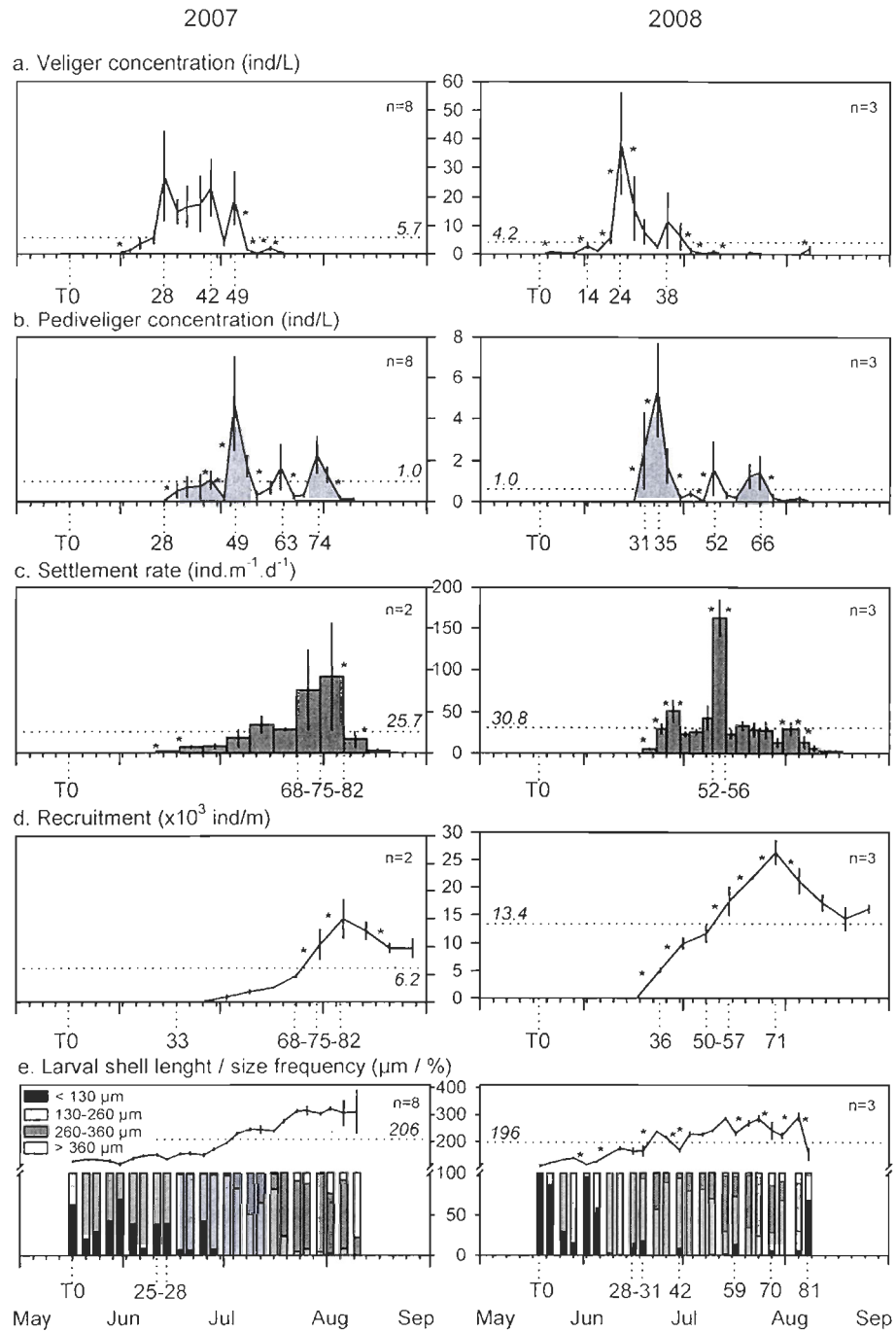


Figure 15: Monitoring mussel larvae and post-larvae in 2007 and 2008

a) and b) veliger and pediveliger concentrations, c) settlement rate, d) recruitment, and e) mean shell length (line) and related size frequencies (bars). Mean \pm SE (n = number of samples, dotted line = seasonal mean). * indicate a significant variation between two successive dates ($p < 0.05$).

In accordance with the expected duration of the planktotrophic phase (1–4 weeks; Bayne 1965), these delays would represent the time for larvae to acquire competency. Thus the inter-annual difference in the delays (10 days longer in 2007) would reflect slower larval growth in 2007. While the usual recognized size for competency is 260 μm (McGrath et al. 1988), mean larval shell length had maximum values of $321 \pm 7 \mu\text{m}$ in 2007 and $299 \pm 14 \mu\text{m}$ in 2008. The presence of byssal-drifting post-larvae (Lane et al. 1985) contributed to the increase in the observed mean larval size. However, their abundances, only estimated in 2008, were low (from 0.01 ± 0.01 to $0.21 \pm 0.11 \text{ ind/L}$) and their proportions never exceeded 33 % of the potential settlers (except at T70 when they reached 75 %). In fact, most large individuals were late pediveligers; this strongly suggests a delay of metamorphosis (e.g., Bishop et al. 2006b).

Settlement-recruitment

There was no significant inter-annual difference between the mean seasonal settlement (26 ± 9 vs $31 \pm 9 \text{ ind.m}^{-1}.\text{d}^{-1}$) and the maximum peak settlement rate at T75–82 in 2007 and T52–56 in 2008 (92 ± 64 vs $163 \pm 22 \text{ ind.m}^{-1}.\text{d}^{-1}$; Table 3, Fig. 15c). The 2007 peak did not differ significantly from values obtained during the previous weeks due to the high variance. Such variability could again be a consequence of high local spatial heterogeneity in settlement, but also of the one-week overlap between two successive periods of rope immersion. In this context, the fact that the settlement rate decreased significantly after T82 suggests that the peak occurred rather at T68–75 than at T75–82 (Fig. 15c). Post-larvae appeared as soon as competent larvae were available in the water column, but there were no correlations between the temporal series of settler versus pediveliger abundances ($\text{Rho} = 0.33$, $p = 0.36$ vs $\text{Rho} = -0.14$, $p = 0.38$). The settlement peak occurred only 19 or 17 days after the period of maximum pediveliger abundance in 2007 and 2008, respectively. Some authors have emphasized that it is risky to relate larval supply to settlement intensity (Miron et al. 1995, Olivier et al. 2000) and vice versa (Shanks 2009) since larval behavior is a major source of asynchrony (Pineda et al. 2010). However, there was strong evidence of a settlement delay for both years until specific

cue(s) triggered the end of the pelagic phase. The high mean larval size during the settlement peak (315 ± 16 in 2007 and $285 \pm 5 \mu\text{m}$ in 2008) supports this hypothesis, as Martel et al. (unpublished data), working on the same post-larval batches as in the present study, report a gradual increase in the mean larval shell size at metamorphosis (prodissoconch II) throughout the reproductive season in BHA.

Even though recruitment correlated with settlement rate only in 2007 ($\text{Rho} = 0.68$, $p = 0.02$ vs $\text{Rho} = 0.34$, $p = 0.05$), it was considerably improved by the peak settlement rate for both years, as revealed by the highest recruitment increase during these periods: $5\,556 \pm 1\,076$ (T68–75) in 2007 and $5\,758 \pm 745$ ind/m (T50–57) in 2008. On the whole, the mean seasonal recruitment was better in 2008 than in 2007 ($6\,171 \pm 1\,648$ vs $13\,395 \pm 2\,426$ ind/m; Table 3, Fig. 15d) despite the very similar year-to-year dynamics of veligers and pediveligers in the water column and the same kinetics of local settlement. While the maximum recruitment was statistically similar for both years ($14\,938 \pm 3\,374$ ind/m at T82 vs $26\,331 \pm 2\,123$ ind/m at T71; Table 3), the final recruitment was still higher in 2008 comparatively to 2007 ($9\,768 \pm 1\,664$ vs $16\,066 \pm 683$ ind/m; Table 3, Fig. 15d). The decrease in recruitment at the end of the season (after T82 in 2007 and after T71 in 2008) results mainly from self-thinning processes (Frechette & Lefaivre 1995) and/or losses through fall-offs of associated epibiotic macro-algae (Bourque & Myrand 2007).

A match/mismatch with trophic quality

Trophic conditions were very similar for the two years, with statistically comparable concentrations of TPM (3.0 ± 0.3 vs 3.5 ± 0.3 mg/L) and POM (1.0 ± 0.1 vs 0.9 ± 0.1 mg/L; Table 3, Fig. 16a). The higher POM/TPM ratio in 2007 indicates better POM availability than in 2008 (40 ± 4 vs 30 ± 2 %; Table 3). For both years, particulate inorganic matter (PIM) always dominated the seston throughout season, as illustrated by the strong correlation with TPM ($\text{Rho} = 0.96$ vs 0.99 , $p < 0.0001$). PIM is important for the feeding of bivalve larvae as it facilitates the aggregation of cells such as bacteria, which are

normally too small to be ingested by larvae (Bayne 1983). In terms of lipids quantity in the seston, the masses of total fatty acids (MTFA) did not differ statistically between years (31.9 ± 6.5 vs 29.8 ± 1.5 $\mu\text{g}/\text{mg}$ of POM; Table 3, Fig. 16b). These similar POM and MTFA contents in conjunction with a reduction of the sieve mesh size from 80 μm in 2007 to 20 μm in 2008 could suggest that organisms in the pico and nano size ranges dominated the planktonic communities in this lagoon.

Mean seston SFA levels were higher in 2007 than in 2008 (71.3 ± 5.1 vs 39.6 ± 0.6 %), and consequently we found lower levels of MUFA (10.0 ± 1.8 vs 20.9 ± 0.7 %), PUFA (18.7 ± 3.3 vs 39.6 ± 0.8 %) and EFA (1.7 ± 1.7 vs 21.8 ± 0.6 %; Table 3, Fig. 16c). Indeed, despite a remarkable year-to-year stability in seston and MTFA quantities, the lipid quality differed drastically. The planktonic food source seemed to be mostly heterotrophic in 2007, with low levels of PUFA and EFA, and autotrophic in 2008, with higher levels of PUFA and EFA (Sargent et al. 1999, Dalsgaard et al. 2003). The reduction of the sieve mesh size in 2008 could not explain such differences: phytoplankton is the main producer of EFA, and if algal production had been consistent in 2007, EFA levels would have been higher through “trophic modification” by heterotrophic protists (Tang & Taal 2005, and references therein).

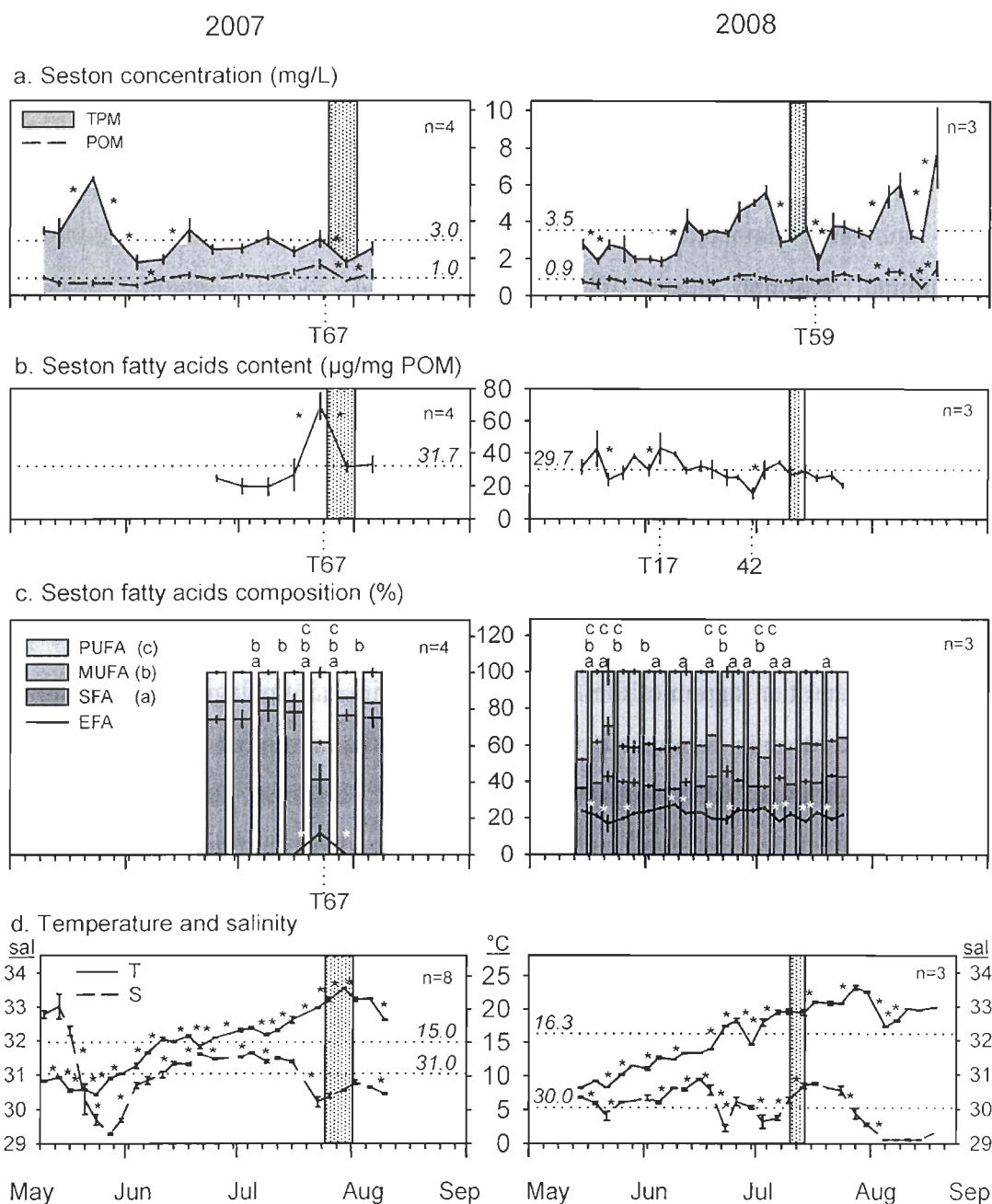


Figure 16: Monitoring seston and environmental conditions in 2007 and 2008

a) total particulate (TPM) and organic (POM) matter concentrations, b) and c) seston fatty acid content and composition, and d) water temperature (T) and salinity (S). Mean \pm SE (n = number of samples, dotted line = seasonal mean; stippled bar = mussel settlement peak). * indicates significant variations between successive dates ($p < 0.05$). For seston fatty acid composition (c), a, b, and c indicate significant differences for the associated fatty acids between successive dates.

In 2008, the mean total abundance of bacteria was $3.7 \pm 0.1 \times 10^6$ cells/mL; these were dominated by cells with high nucleic acid content (HNA), with a mean abundance of $2.5 \pm 1.0 \times 10^6$ cells/mL (Fig. 17a). In fact, HNA cells were strongly correlated with total bacteria, representing 61 to 75 % of the bacterial compartment ($Rho = 0.98$, $p < 0.0001$). The pico- and nanocyanobacteria abundances were correlated ($Rho = 0.54$, $p < 0.0001$), and they exhibited seasonal means of $7\,994 \pm 1\,353$ and 38 ± 6 cells/mL, respectively (Fig. 17b). No significant correlation was found between the two groups of eukaryotes dominating the planktonic community ($Rho = 0.07$, $p = 0.4$). Their contribution to the pico- and nanoplankton was 99.7 and 85 % while their seasonal mean was 44.5 ± 4.0 and $14.5 \pm 1.2 \times 10^3$ cells/mL, respectively (Fig. 17c). With its very low concentrations of inorganic nutrients ($< 1.1 \mu\text{M}$ for nitrogen and phosphate and $< 3.9 \mu\text{M}$ for silicate, unpublished data) and its high abundance of bacteria, the BHA lagoon can be classified as oligotrophic with a bacterial-based food web. This classification was suggested by Trottet et al. (2007) for another lagoon of the Îles de la Madeleine archipelago. These authors also reported that heterotrophs dominated such lagoons and that autotroph blooms were always short and very punctual, as we observed during 2007. However, the mostly autotrophic production sustained by very small cells in 2008 tempers these finding and emphasizes the importance to using flow cytometry to quantify picoplankton rather than relying on microscopic observations alone.

The low EFA content in the 2007 seston could explain the low observed larval growth rates (Delaunay et al. 1993), but the year-to-year similarity of the settlement intensity suggests that larvae still accumulated sufficient lipid reserves to meet the high energetic demand of metamorphosis (Videla et al. 1998, Pernet et al. 2004). These results suggest that even heterotrophic production, which is poor in EFA, could sustain a standard larval cycle. Thus this raises questions about previous experimental results, which focus on the EFA requirement to improve larval development (Soudant et al. 1998, Glencross 2009). In fact, bivalves could overcome a dietary EFA deficiency by *de novo* biosynthesis of non-methylene interrupted PUFA (Zhukova et al. 1992). However, the low lipid values of the seston may have influenced the recruitment success observed in 2007, since juvenile

performance depends directly on the trophic conditions experienced by larvae (Phillips 2002, 2004). The higher seston EFA levels in 2008 compared to 2007 (Fig. 16c) may be related to the higher recruits survival that year (Fig. 15d). In fact, the lower recruitment in 2007 suggests a seasonal match/mismatch with the seston EFA content, and that strengthens the importance of considering food quality in recruitment studies (Vargas et al. 2006) in addition to food abundance (Durant et al. 2005) and composition (Beaugrand et al. 2003).

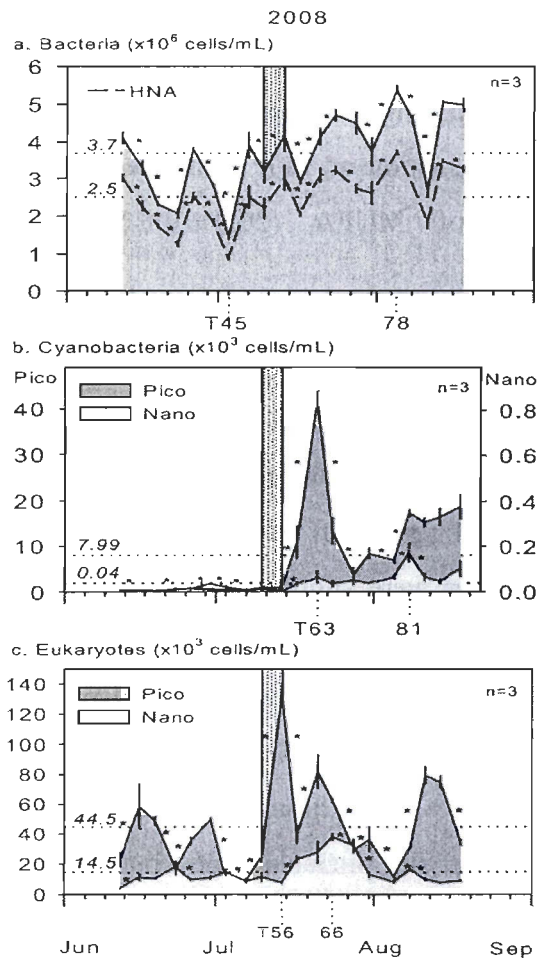


Figure 17: Monitoring concentrations of plankton components in 2008

a) total and high nucleic acid (HNA) bacteria, b) cyanobacteria, and c) eukaryotes. Pico- (0.2–2 μm) and nano- (2–20 μm) size classes are distinguished in b) and c). Mean \pm SE (n = number of samples, dotted line = seasonal mean, stippled area = mussel settlement peak). * indicate significant variations between successive dates ($p < 0.05$).

A trigger for settlement

In both 2007 and 2008, the main mussel settlement peak coincided with specific conditions in the seston that could provide conditions enhancing settlement rate. In 2007, despite the absence of a correlation between seston components (TPM, POM, MTFA, SFA, MUFA, PUFA, and EFA) and settlement rate, the settlement peak (T68–75; Fig. 15c) followed a phytoplankton bloom (T67), which was drastically different from the overall heterotrophic conditions observed throughout the season. This pulse was reflected by the highest values of POM concentration (1.7 ± 0.2 mg/L; Fig. 16a), availability (POM/TPM > 50 %), and related MTFA (69.1 ± 8.4 µg/mg of POM; Fig. 16b). Seston FA profiles revealed a mostly autotrophic plankton production at T67, with lower levels of SFA (41.3 ± 2.5 %) and greater proportions of MUFA (20.8 ± 0.8 %), PUFA (38.1 ± 2.7 %) and EFA (11.7 ± 2.8 %; Fig. 16c).

In contrast to 2007, there were no major changes in the seston quantity and lipid quality in 2008: the maximum POM value (1.5 ± 0.4 mg/L) was measured on the last sampling date; the POM/TPM ratio exceeded 0.5 only at T59, after the settlement peak; and MTFA ranged from 15.7 ± 3.0 (T42) to 43.0 ± 9.3 µg/mg of POM (T17; Fig. 16a–b). During all of the 2008 sampling season, FA profiles were similar to T67 in 2007, thus reflecting a continuous autotrophic production (Fig. 16c). FA groups exhibited slight but significant temporal variations, but only MUFA were correlated with the settlement rate ($Rho = 0.44$, $p = 0.02$). In contrast, the settlement peak in 2008 (T52–56) was synchronized with a pulse of picoeukaryotes reaching a maximum concentration of $133.4 \pm 5.4 \times 10^3$ cells/mL at T56 (Fig. 17c). In fact, the picoeukaryote abundance best correlated with settlement rate ($Rho = 0.57$, $p < 0.0001$), which was also slightly significantly related to the nanocyanobacteria concentration ($Rho = -0.32$, $p = 0.02$) and the proportion of HNA ($Rho = 0.45$, $p = 0.0009$). Among the 19 variables integrated in the regression model, three explained 83 % of the settlement rate variability: picoeukaryotes had the highest contribution ($R^2 = 0.59$) followed by nanoeukaryotes ($R^2 = 0.19$) and picocyanobacteria ($R^2 = 0.04$; see Appendix B2 for detailed results).

We thus hypothesize that a change in seston characteristics triggered settlement and that this ‘trophic settlement trigger’ depended on both resource quantity and quality. For both years, the increase in resources rich in EFA would constitute high-value food, providing suitable conditions for larval metamorphosis and post-larval survival. Since Courties et al. (1994) demonstrated that picoeukaryotes could dominate the phytoplankton biomass in a coastal lagoon, it has been thought that they could play an important ecological role in such environments (Bec et al. 2005). In addition, the high content in dietary EFA biochemically benefits to larvae during metamorphosis (Soudant et al. 1998, Pernet et al. 2004) and post-larvae during benthic life (Phillips 2002, 2004).

The phytoplankton succession is controlled by hierarchical physical factors such as water motion, irradiance, and temperature (Levasseur et al. 1984), and picoplankton is also subjected to these controls (Winder 2009). In the present study, the trigger occurred during a short temporal window, when seawater was warmer than 19 °C and the salinity was 30–31 (Fig. 16d); such conditions could indirectly influence settlement dynamics by conditioning plankton production. There was no significant inter-annual difference in the mean seawater temperature (15.0 ± 0.9 vs 16.3 ± 0.9 ; Table 3, Fig. 16d), which was only correlated to settlement rate in 2007 ($\text{Rho} = 0.90$, $p = 0.0003$). This parameter influences the metabolic activity of the plankton (Levasseur et al. 1984) and ultimately acts on biological processes, as observed for the recruitment success of the shrimp *Pandalus borealis* (Ouellet et al. 2007). In addition, warm temperatures could improve diet assimilation by enhancing cilia movement and the catalytic activity of digestive enzymes (Rico-Villa et al. 2009). Water salinity, which was slightly higher in 2007 (31 ± 0.2 vs 30 ± 0 ; Table 3, Fig. 16d) was correlated to settlement rate only in 2008 ($\text{Rho} = 0.52$, $p = 0.0001$), but overall was not restrictive for larvae: the optimal salinity has been demonstrated to exceed 20 for *M. edulis* larvae (Qiu et al. 2002). Nevertheless, salinity variations could reflect freshwater inputs and could influence biological processes through plankton production, as demonstrated by Starr et al. (1993) on the spawning of the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*. In fact, the settlement peak occurred after a significant decrease in salinity in 2007 (Fig. 16d), as a consequence of heavy rainfall

(70 mm in 3 days). Further studies have to be conducted to understand the mechanisms involved in such synchronization since the trigger could also be related to the release of chemical cues associated with phytoplanktonic exoproducts (Starr et al. 1990) and/or to biofilm (Hadfield 2011).

CONCLUSIONS

In heterotrophic conditions (2007), we validated our hypothesis (H1) relating mussel settlement to levels of essential fatty acids (EFA) in the seston. However, in autotrophic conditions (2008), no such relationship was observed, probably because other food cues were involved in the settlement process. Nevertheless, we have clearly demonstrated that settlement peaks in both years were triggered by a pulse of autotrophs irrespective of the trophic environment throughout the season. In addition, we validated our second hypothesis (H2) linking recruitment success to a match/mismatch with the seston EFA at the scale of the reproductive season: a mostly autotrophic production with abundant EFA results in higher mussel recruitment than a heterotrophic production with higher saturated fatty acids. For the first time, we demonstrated not only a bottom-up influence of planktonic production on settlement, but also the importance of the quality of trophic lipids on recruitment in a marine bivalve. The two processes act independently of each other, and the ‘trophic settlement trigger’ is complementary to the match/mismatch by substantially improving recruitment success when present.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by the Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ), the Société de Développement de l'Industrie Maricole (SODIM), the Réseau Aquaculture Québec (RAQ), the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC), the Canada Research Chairs Program (CRC) and the Canada Foundation for Innovation (CFI). We address special thanks to the technical staffs of the Centre maricole des Îles-de-la-Madeleine (CeMIM, Cap-aux-Meules, QC, CA), the Institut de Recherche en Zones Côtières (IRZC, Shippagan, NB, CA), and the Institut des Sciences de la Mer (ISMER, UQAR, Rimouski, QC, CA). We also thank the local shellfish farmers (Moules de Culture des Îles Inc. and Grande-Entrée Aquaculture Inc.) and Gaétan Daigle, from the Département de mathématique et statistique de l'Université Laval (Québec, QC, CA).

APPENDIX A

1. Fatty acids analysis

Filters were stored under nitrogen at -80 °C in dichloromethane-methanol (2:1, v/v) containing BHT antioxidant (3,5-Di-ter-butyl-4-hydroxytoluene; 0.1 %, w/v). Fatty acid methyl esters (FAME) were extracted in hexane through direct transesterification (Lepage and Roy 1984), i.e., without prior extraction or purification, using sulfuric acid-methanol (2:98, v/v) and toluene-methanol (2:3, v/v). In 2007, FAME were run on Varian CP3900 gas chromatograph equipped with a fused silica Omegawax 320 capillary column (Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA); chromatograms were analyzed using the Star Chromatography Workstation v.5.51 software (Varian Inc., Palo Alto, CA, USA). In 2008, FAME were analyzed in MSMS scan mode (ionic range: 60 – 650 m/z) on a Polaris Q ion trap coupled to a Trace GC (Thermo Finnigan, Mississauga, ON, CA) equipped with a Valcobond VB-5 capillary column (VICI Valco Instruments Co. Inc., Broakville, ON, CA); data were treated using Xcalibur v.1.3 software (Thermo Scientific, Mississauga, ON, CA). For both years, FAME were identified by comparing retention times with known standards (Supelco 37 Component FAME Mix and menhaden oil; Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA).

2. Flow cytometry

Samples (4.5 mL) of pre-filtered surface water (20 µm square mesh) were fixed with glutaraldehyde (0.1 % final v/v) and analyzed using an Epic Altra flow cytometer (Beckman Coulter Inc., Fullerton, BC, CA) fitted with a 488 nm laser operated at 15 mW, with a flow rate set to 60 microliters per minute. Data were analyzed with the Expo32 v.1.2b software (Beckman Coulter Inc., Fullerton, BC, CA). Heterotrophic bacteria were quantified in diluted samples stained with SYBR Green I nucleic acid binder (Molecular Probes Inc., OR, USA), and they were separated according to their nucleic acid content following Belzile et al. (2008; LNA and HNA for low and high nucleic acid, respectively). Pigmented cells (eukaryotes and cyanobacteria) were separated from other cells through their natural fluorescence; the pico (0.2–2 µm) and nano (2–20 µm) size classes were considered by using green-fluorescent microspheres (Polyscience Inc., PA, USA) as a 2 µm internal size standard (Tremblay et al. 2009).

APPENDIX B

1. Influence of date on mussel larvae, settlement, and recruitment, seston, and environmental conditions in BHA in 2007 and 2008 [†].

Dependant variables	2007			2008		
	df	F	p	df	F	p
<i>Larvae</i>						
Veligers	24	27.93	<0.0001	24	5.97	<0.0001
Pediveligers	24	8.88	<0.0001	24	6.25	<0.0001
Larval size	24	67.61	<0.0001	23	23.15	<0.0001
<i>Settlement</i>						
	10	75.88	<0.0001	27	23.51	<0.0001
<i>Recruitment</i>						
	10	185.78	<0.0001	11	26.3	<0.0001
<i>Seston</i>						
TPM	13	8.27	<0.0001	27	8.71	<0.0001
POM	13	5.60	<0.0001	27	3.71	<0.0001
POM/TPM	13	20.89	<0.0001	27	4.41	<0.0001
Bacteria		n.a.		19	26.83	<0.0001
HNA bacteria		n.a.		19	23.05	<0.0001
HNA/bacteria		n.a.		19	16.35	<0.0001
Picocyanobacteria		n.a.		19	63.14	<0.0001
Nanocyanobacteria		n.a.		19	12.89	<0.0001
Picoeukaryotes		n.a.		19	41.27	<0.0001
Nanoekaryotes		n.a.		19	21.26	<0.0001
MTFA	6	11.11	<0.0001	20	2.34	<0.0001
% SFA	6	93.83	<0.0001	20	7.65	<0.0001
% MUFA	6	156.97	<0.0001	20	8.67	<0.0001
% PUFA	6	30.38	<0.0001	20	8.71	<0.0001
% EFA	6	30.61	<0.0001	20	10.8	<0.0001
<i>Environment</i>						
Temperature	24	426.40	<0.0001	27	598.91	<0.0001
Salinity	24	54.00	<0.0001	27	45.73	<0.0001

[†] Results of mixed-model ANOVAs with dates (7<n<28) and stations (2<n<8) as repeated and random factors:

n.a. = non available; TPM and POM = total and organic particulate matter; HNA = high nucleic acid; MTFA = mass of total fatty acids; SFA, MUFA, and PUFA = saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids; EFA = essential fatty acids (= AA + EPA + DHA).

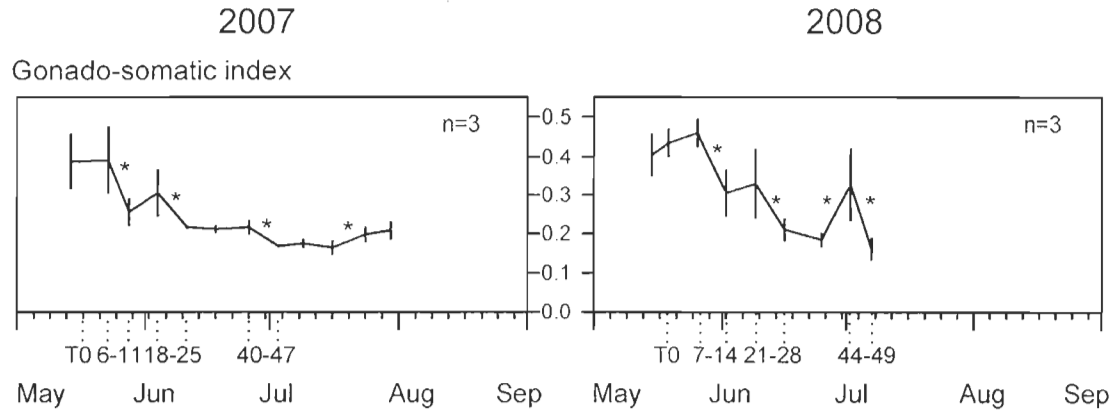
2. Summary of the stepwise selection of the regression model computed to explain the temporal variation of the mussels' settlement rate in 2008 (17 dates with $n = 3$ per date)[†].

Step	Entered variable	Partial R ²	Model R ²	C(p)	F value	Pr>F
1	Picoeukaryotes	0.5932	0.5932	54.3145	39.37	<0.0001
2	Nanoeukaryotes	0.1948	0.7880	17.8092	23.90	<0.0001
3	Picocyanobacteria	0.0383	0.8264	12.4272	5.52	0.0270

[†] 19 variables were entered in the model: pediveliger concentration; larval size; TPM and POM content; POM/TPM; total and HNA bacteria concentration; HNA/total bacteria; picocyanobacteria, nanocyanobacteria, picoeukaryotes, and nanoeukaryotes concentration; SFA, MUFA, PUFA, and EFA proportion; MTFA; temperature; and salinity.

APPENDIX C

Monitoring of mussel spawning in BHA in 2007 and 2008 †.



† Gonado-somatic index (GSI) were calculated for 10 adults (> 50 mm shell length) harvested from each mussels bed (n = 3). A rapid GSI decrease indicates spawning (Myrand et al. 2000). Results of repeated mixed-model ANOVAs testing the temporal variation: i) $F_{(11)} = 19.93$, $p < 0.0001$ in 2007, and ii) $F_{(8)} = 12.33$, $p < 0.0001$ in 2008. * indicates a significant variation between two successive dates ($p < 0.05$).

CHAPITRE 2

EFFET DE L'AGE DU BIOFILM SUR LA FIXATION DE *MYTILUS EDULIS*

Ce deuxième article, intitulé « *Effect of the biofilm age on Mytilus edulis settlement* », fut corédigé par moi-même, les professeurs Isabelle Linossier, Nathalie Bourgougnon, Bruno Myrand, Frédéric Olivier, Connie Lovejoy, et Réjean Tremblay, ainsi que ma collègue Vani Mohit. La version présentée ici sera soumise au journal *Bioufouling* au début de l'année 2012. En tant que premier auteur, ma contribution à ce travail fut l'essentiel de la recherche sur les caractéristiques du biofilm et son influence sur la fixation des invertébrés marins, l'élaboration du plan d'échantillonnage, la réalisation des expérimentations sur le terrain, les analyses en laboratoire, le traitement statistique des résultats et la rédaction de l'article. Les professeurs B. Myrand, F. Olivier et R. Tremblay ont fourni l'idée originale et ont aidé à la définition de la problématique, à l'élaboration du plan d'échantillonnage ainsi qu'à la révision de l'article. Les professeurs Isabelle Linossier, Nathalie Bourgougnon et Connie Lovejoy ont apporté au projet leur connaissances et savoir-faire quant à l'étude des communautés microbiennes en participant à l'élaboration du plan d'échantillonnage ainsi qu'à la révision de l'article. Spécialisées dans le développement du biofilm, mesdames Linossier et Bourgougnon m'ont accueilli dans leur laboratoire en octobre 2010. Au cours de ce stage, j'ai analysé les biofilms au microscope électronique tandis que madame Linossier s'est chargée de l'analyse au microscope confocal. Mademoiselle V. Mohit a réalisé la caractérisation génétique des différents biofilms et rédigé la partie relative à cette analyse.

2.1 RÉSUMÉ

Il est généralement admis qu'un biofilm vieillissant améliore la fixation des larves de moule, mais peu d'informations existent quant à la structure et la composition taxonomique du biofilm. Dans la présente étude, l'objectif était de caractériser des biofilms multi-spécifiques à différents âges (1, 2 et 3 semaines), et de tester leur influence, en milieu naturel, sur la fixation de la moule bleue (*Mytilus edulis*). Dans la mesure où le biofilm constitue une ressource trophique non-négligeable pour les larves, sa qualité lipidique du biofilm pourrait constituer un critère de sélection pour la fixation. Ainsi, nous avons posé l'hypothèse que la proportion relative d'acides gras essentiels dans le biofilm augmente avec le vieillissement. Globalement, le taux de fixation fut supérieur sur les biofilms âgés de plus d'une semaine, et cela serait relié à un changement d'abondances et de composition, plutôt qu'à un changement de qualité. Néanmoins, l'influence du biofilm fut nulle dans des conditions de floraison phytoplanctonique, suggérant que les signaux issus du pélagos ont plus d'influence que ceux émis par le biofilm. Ainsi, la métamorphose des larves de moule dépendrait des caractéristiques du biofilm uniquement lorsque les conditions trophiques sont limitées.

2.2 EFFECT OF THE BIOFILM AGE ON *MYTILUS EDULIS* SETTLEMENT

Authors:

Nicolas Toupoint¹, Vani Mohit², Isabelle Linossier³, Nathalie Bourgougnon³, Bruno Myrand⁴, Frédéric Olivier^{1,5}, Connie Lovejoy², Réjean Tremblay¹.

Institutions:

¹ Institut des Sciences de la Mer (ISMER) - Université du Québec à Rimouski (UQAR); 310, Allée des Ursulines, CP 3300, Rimouski (Québec), Canada, G5L 3A1.

² Département de biologie Québec-Océan and Institut de Biologie Intégrative et des Systèmes – Université Laval, Québec, Québec G1K7P4, Canada..

³ Université européenne de Bretagne, Laboratoire de Biotechnologie et Chimie Marine (LBCM), Université de Bretagne Sud (UBS), Campus de Tohannic - BP 573, 56017 Vannes –France.

⁴ Merinov, Centre d'innovation de l'aquaculture et des pêches du Québec, Direction de la production de biomasse, 107-125 chemin du Parc, Cap-aux-Meules (Québec), Canada G4T 1B3.

⁵ Muséum National d'Histoire Naturelle, Département Milieux et Peuplements Aquatiques, UMR 7208 BOREA CNRS/P6/IRD/MNH

ABSTRACT

Biofilm ageing is commonly assumed to improve mussel settlement on artificial substrates but the structure and taxonomic composition of biofilms remains unclear. In the present study, multi-species biofilms were characterized at different ages (1, 2, and 3 weeks) and their influence on blue mussel (*Mytilus edulis*) settlement was tested in the field. As biofilms could constitute a consistent food resource for larvae, the lipid quality may be a selection criterion for settlement. Lipid quality, defined as the related essential fatty acid proportion was hypothesized to increase with biofilm age. Overall mussel settlement increased on biofilms older than one week, and the enhanced settlement corresponded to abundances and composition rather than to essential fatty acids levels. However, the positive influence of biofilm was not detected during a phytoplankton bloom, suggesting that pelagic cues are stronger than those associated with biofilms. Biofilm influences mussel metamorphosis and this is more likely to occur when planktonic resources are limited.

Keywords

Mytilus edulis; settlement enhancement; biofilm; bacteria; eukaryotes; fatty acids.

INTRODUCTION

All substrates immersed in water become colonized by living organisms defined as a biofilm (Palmer & White 1997). The biofilm starts with the colonization of microfouling organisms and its complexity increases as the substrate remains immersed. An organic matrix made up of proteins and carbohydrates develops rapidly on the substrate and enhances the fixation of additional pioneer bacteria, followed by microalgae (mainly diatoms), sponges and ciliate protists. Over time biofilms are augmented by the settlement of macrofouling organisms, such as macroalgae or invertebrate larvae (Wahl 1989, Kristensen et al. 2008). These communities are regulated by top-down physical and bottom-up biological factors (Thompson et al. 2004). The settled organisms exude organic compounds, which create the matrix that embeds the entire community. This matrix, an important component of the biofilm, is primarily composed of extracellular polymer substances (EPS), which vary in composition depending on species, cell concentrations and trophic conditions of the biofilm (Decho 1990, Stal 2003, Wotton 2004).

Microbial biofilms classically enhance settlement (Lau et al. 2005) and facilitate adhesion of invertebrates (Zardus et al. 2008), even if scenarios of inhibition are frequently described (Todd & Keough 1994, Olivier et al. 2000). The settlement intensity may depend on biofilm characteristics, such as surface chemistry, wettability, and biological exoproducts (Qian et al. 2007). The influence of biofilm age on larval settlement is reported to be quantitative since biofilm age is also linked to bacteria and diatom densities (Rahim et al. 2004, Bao et al. 2007a) which is thought to enhance larval settlement. Biofilm age could also determine microbial community structure (Wieczorek & Todd 1997) and community metabolic activity (Satuito et al. 1995). However, there are few reports on structure and dynamics of the surface-colonizing microbiota in natural aquatic environments (Jones et al. 2007, Dang et al. 2008)

Mussel settlement in particular is positively correlated with biofilm age (Bao et al. 2007a, Peteiro et al. 2007), however specific properties of biofilms that influence habitat

selection process are not well known. Mussel larvae respond to bacterial bio-chemical cues present at the substrate surface as well as in the surrounding water (Satuito et al. 1995, Bao et al. 2007b, Ganesan et al. 2010). Laboratory studies indicate that mussel settlement may also be induced by artificial pharmacological substances (Dobretsov & Qian 2003) such as neuroactive compounds or organic solvents (Satuito et al. 1999, Yang et al. 2008). However larval responses under natural conditions may not be accurately reflected in laboratory studies (Wieczorek & Todd 1997) and the perception of cues by larvae leading to settlement are poorly understood (Hadfield 2011).

In addition, fouling organisms could constitute an important trophic resource for ready to settle pediveligers and early developmental stages of post-larvae *via* pedal-feeding (Veniot et al. 2003, Cannuel et al. 2009). Little information is available for *Mytilus* species, but previous works on *Patinopecten yessoensi* showed that the only presence of benthic food could sustained the post-larval growth (Ó Foighil et al. 1990). Accordingly, Gatenby et al. (1997) showed that *Villosa iris* (freshwater mussel) post-larvae feeding on benthos could develop normally during 140 days. Overall, the quality of biofilm lipids could be a selection criterion for larvae to settle since some polyunsaturated fatty acids (PUFA), such as arachidonic, eicosapentanoic, and docosahexaenoic acids (AA, EPA, and DHA, respectively), have been considered essential fatty acids (EFA) for the metamorphic success of bivalve larvae (Delaunay et al. 1993, Soudant et al. 1998, Pernet et al. 2005, Gagné et al. 2010). However, most studies on lipid food quality have been on the microphytobenthos and little data are available for biofilms (Middelburg et al. 2000, Coelho et al. 2011).

The objectives of the present study were i) to induce biofilms on artificial substrates submerged in natural lagoon water with an aim to characterize the biofilms over one, two and three weeks in terms of cell density, biomass, species composition and lipids ii) to test the effect of biofilm age, through field experiments on the settlement rate of blue mussel spat (*Mytilus edulis*, L 1758). The specific hypotheses tested were: mussel larval settlement

rate increases with the biofilm age (H1) and this rate is linked to the EFA content of the biofilms (H2).

MATERIALS AND METHODS

Study site

The study was carried out in the Îles de la Madeleine, an archipelago located in the Southern part of a semi-closed sea, the Gulf of St. Lawrence. Polypropylene (PP) collectors were conditioned in a wet laboratory continuously supplied by running lagoon water. Once biofilms were established, field tests on mussel settlement were carried out in the Bassin du Havre-Aubert (BHA, 3 km², 2-3 m depth; Figure 18). The BHA constitutes the main area of spat collection for local mussel farmers; spat is collected on PP ropes suspended in the water column.

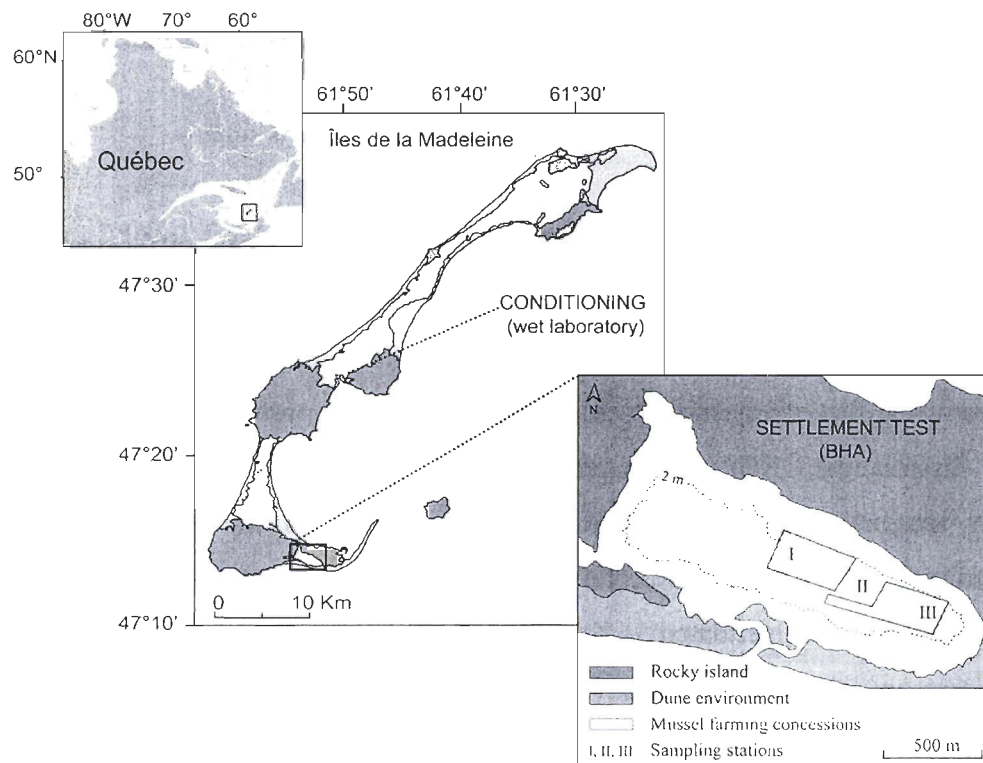


Figure 18: Study site for the biofilm conditioning and sampling design for the test on mussel's settlement.

BHA : Bassin du Havre-Haubert.

Sampling design

Two sets of experiments were conducted in 2008 and 2009 (Table 4) at three different experimental stations located within (I and II) and close to (III) the commercial site of spat collection (Figure 18). In 2008, temporal variability was investigated by way of three experiments repeated over the summer (S1–S3 sessions). In 2009 (S4 session), specific structures were conditioned together with mussel spat collectors to analyze finely the biofilm features (molecular to microscopic analyses).

Table 4: Schedules for biofilm conditioning and settlement experimentation in BHA with the beginning date and the duration (dd/mm (day)), and the average temperature for each session.

Year	Session	Biofilm conditioning in tank				Settlement in BHA	
		T3 [†]	T2 [†]	T1 [†]	Temp (°C)	Start	Temp (°C)
2008	S1	05/06 (21)	12/06 (14)	19/06 (7)	13.1	26/06 (4)	15.6
	S2	19/06 (21)	26/06 (14)	03/07 (7)	15.7	10/07 (4)	18.7
	S3	03/07 (21)	10/07 (14)	17/07 (7)	18.6	24/07 (4)	22.4
2009	S4	16/07 (21)	23/07 (14)	30/07 (7)	18.8	06/08 (7)	21.1

[†] Tx = x weeks-old biofilm.

Biofilm and mussel settlement

Mussel spat collectors were similar to those used by mussel farmers and made up with PP ropes (1.3 m length, 1.3 cm diameter). For biofilm conditioning, they were pre-washed in absolute alcohol and incubated in a 1 675 L tank continuously supplied with lagoon water, that had been filtered through a 45-55 µm porosity sand filter (Sta-Rite Pool Inc., Mississauga, ONT, CA) to remove large particles such as invertebrate larvae. The inflow was maintained at a constant rate of 12 L min⁻¹, and the overflow was continuously flushed out *via* a drainage pipe. The water temperature in the tank was measured each day. The collectors were incubated 1, 2 or 3 weeks, thus providing three biofilm treatments of increasing age labeled T1, T2 and T3, respectively (Table 4).

Then, conditioned collectors were transferred to the three experimental stations in BHA and immersed together with unconditioned collectors acting as control (n = 3 per

biofilm age and per station) for 4 day in 2008 (S1–S3 sessions) and 7 days in 2009 (S4 session; Table 4, Figure 18). The seawater temperature was measured each day. In the laboratory, settled post-larvae were counted under stereomicroscope at a 10X magnitude (MZ75, Leica Microsystems SA., Richmond Hill, ONT, CA) to assess the settlement rate ($\text{ind m}^{-1} \text{d}^{-1}$). During both years, the abundance of pelagic competent larvae and the settlement rates on commercial collectors were monitored seasonally as described in Toupoint et al. (Submitted). Briefly, 1 000 L of seawater was sampled from 0.5 to 2 m below the surface ($n = 3$ per station), immediately sieved (80 and 390 μm square mesh), and the material retained on small sieve was held in 80 μm filtered seawater on ice until larval identification and numbering according to Aucoin et al. (2004).

Biofilm characterization

In 2009 (S4 session), roughened pre-cut PP sheets (9 bands of 22.9 cm length X 1.27 cm width, Gemex Inc., Granby, QC, CA) were incubated in tandem with the mussel spat collectors, according to the same procedure previously described.. Such structures were used for further biofilm characterization, as the 3-D structure of the collector ropes was not amenable to all of our analyses. Different sizes of bands were sampled on the PP sheet ($n = 3$ per biofilm age) to characterize the biofilm as follow (Table 5):

Table 5: List of the parameters and the associated dimensions of samples for the biofilm characterization in 2009 (S4).

Parameters		Analysis	L (cm)	PP bands Side	Surf (cm^2)
a)	Biomass	dry weight	91.4	recto	116.1
b)	Abundances	FCM	22.9	recto-verso	58.1
c)	Diversity	rRNA	10.2	recto-verso	25.8
d)	Lipid quality	FAME	<i>the same as in i), performed after weighing</i>		
e)	Structure	CLSM	2.5	recto	3.2
f)	Imaging	SEM	2.5	recto	3.2

$n = 3$ PP bands per biofilm age. FCM = flow cytometry; rRNA = ribosomal ribonucleic acid; FAME = fatty acids methyl esters; CLSM = confocal laser scanning microscopy; SEM = scanning electronic microscopy

- a) BIOMASS was collected with a sterile razor and gently placed onto pre-combusted and pre-weighted glass-fiber filters (GF/F, Whatman Ltd, Maidstone, England). Filters were air-dried in petri dishes for 30-60 minutes and weighed to estimate the biofilm biomass (mg cm^{-2}).
- b) ABUNDANCES of bacteria, pico/nano cyanobacteria and eukaryotes were determined using flow cytometry (FCM). Sampled bands were placed in 80 mL aliquots of seawater which had been previously filtered through autoclaved GF/F filters. Cells were detached from the bands by sonication (3 minutes at 50/60 Hz Branson, Branson Ultrasonics Corp., Danbury, CT, USA) and a 4.5 mL subsample of water containing the detached cells was preserved with glutaraldehyde (0.1 %, final v/v) and left at -80°C until staining and FCM analysis.
- c) DIVERSITY of bacteria and eukaryotes was assessed *via* cloning and sequencing of the 16S and 18S ribosomal ribonucleic acid (rRNA) genes, respectively. The sampled PP bands were stored in 1.8 mL of buffered lysis solution (40 mmol L^{-1} EDTA, 50 mmol L^{-1} Tris, 0.75 mol L^{-1} sucrose, $\text{pH} = 8.3$) at -80°C until further DNA extraction and clone library construction.
- d) LIPID QUALITY was evaluated on filters used in i), which were stored under nitrogen in pre-cleaned amber glass vials with Teflon liner caps containing 3 mL DCM-MeOH (2:1, v/v) and 3,5-Di-ter-butyl-4-hydroxytoluène (BHT; 0.1 %, w/v; antioxidant; Kraffe et al. 2002) at -80°C until fatty acids transesterification and GC-MS analysis. Seston lipids were also evaluated by sampling water from the tank inflow at the end of each conditioning week ($n = 3$). Duplicates (2 L) were filtered through GF/F pre-combusted and pre-weighted glass-fiber filters, which were stored as described above.
- e) SPATIAL STRUCTURE was quantitatively studied by confocal laser scanning microscopy (CLSM). Samples were fixed in cold 4 % paraformaldehyde (PFA, 4°C , 2 hours), triple-washed in ice-cold 1x phosphate buffered saline (PBS, $0.01 \text{ M P-PO}_4^{3-}$), and stored in ice-cold mix of 1x PBS–96 % ethanol (1:1, v/v) until staining and CLSM observation.

f) IMAGING of organisms on biofilm was performed using scanning electron microscope (SEM). Samples were fixed in cold 3% glutaraldehyde (4 °C, 2 hours), triple-washed in phosphate buffer (0.1 M, pH 7.35, 10 min soaking), progressively dehydrated in a series of increasing anhydrous alcoholic solutions (50 %, 70 %, and 95 %, 10 min soaking), and stored in absolute alcohol until desiccation, coating and SEM observation.

Laboratory procedures

Flow cytometry (FCM)

Samples were analyzed with an Epics Altra flow cytometer (Beckman Coulter Inc., Fullerton, BC, CA) equipped with a 488-nm blue laser operating at 1 mW. Green-fluorescent microspheres (2 μ m, Polyscience Inc., Warrington, PA, USA) were used as an internal size standard and the flow rate was set to 60 μ L min⁻¹. The identification of autotrophic cells (eukaryotes and cyanobacteria) was based on their natural cellular fluorescence: red for chlorophyll and orange for phycoerythrin). Distinction between pico (0.2-2 μ m) and nano (2-20 μ m) fractions was made for both eukaryotes and cyanobacteria following Tremblay et al. (2009). The quantification of heterotrophic bacteria with low nucleic acid (LNA) or high nucleic acid (HNA) was made according to Belzile et al. (2008) protocol. Diluted samples (20 % in TRIS-EDTA buffer pH 8) were stained with SYBR Green I probes (Molecular Probes Inc., Eugene, OR, USA), which bound to nucleic acid. Data analyses were performed with the Expo32 software (Beckman Coulter Inc., Fullerton, BC, CA). Abundances of each community were expressed in number of cells per centimeter square of substrate.

Genetic analysis

DNA Extraction. Samples were thawed and treated with lysozyme and proteinase K (Diez et al. 2001) followed by a bead beating step to improve lysis of cell walls (Muller et al. 1998). DNA was then extracted using a modified saline extraction protocol (Aljanabi &

Martinez 1997). Following extraction DNA was eluted in 1x TE buffer (10 mM Tris-HCL, 1 mM EDTA, pH = 7.5) and stored at -80 °C.

16S rRNA and 18S rRNA gene Clone Library Construction. The bacterial 16S rRNA gene was amplified by using Polymerase Chain Reaction (PCR) with the universal bacterial primers 8F (5' - AGAGTTTGATCCTTGGCTCAG - 3') and 1492R (5' - GCYTACCTTGTTACGACTT - 3') (Galand et al. 2008). Eukaryotic 18S rRNA gene was amplified using the primers NSF4/18 (5' - CTGGTTGATYCTGCCAGT - 3') and NSR1787/18 (5' - CYGCAGGTTTCACCTACRG - 3') (Hendriks et al. 1991). Separate PCR reactions were run in triplicates in a 50 µL reaction solution consisting of 1, 2 or 2.5 µL of DNA template, 1x Phusion® HF Buffer, 200 µM of each deoxynucleoside triphosphate, 0.5 µM of each forward and reverse primer, and 0.02U µl⁻¹ Phusion® DNA polymerase (New England Biolabs, Inc., Ipswich, MA, USA). Both 16S and 18S rRNA gene amplifications were performed on a Bio-Rad C1000 thermal cycler with the following amplification program: initial denaturation at 98 °C for 30 sec, 30 cycles at 98 °C for 10 sec, annealing at 55 °C or 53 °C (16S or 18S rRNA gene respectively) for 30 sec, extension at 72 °C for 30 sec and a final extension at 72 °C for 4.5 min. The size of PCR amplicons was verified by electrophoresis on 1 % agarose gel. The PCR products were purified using the Qiaquick PCR Purification Kit (Qiagen Sciences Inc., Germantown, MD, USA) and cloned with Strataclone PCR cloning kit using the manufacturer's protocol (Agilent Technologies Inc., Wilmington, DE, USA). Positive clones were sequenced in both 5' and 3' directions at the Centre Hospitalier de l'Université Laval (CHUL, Québec, QC, CA), with an ABI 3730xl system (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). The universal primers M13-F20 and M13-R17 for the bacterial 16S rRNA gene and NSF 4/18 and NSR 1787/18 for the eukaryotic 18S rRNA gene were used for sequencing. The nearly complete SS rRNA genes were assembled using the SeqMan 5.03 (1989 – 200, DNASTAR Inc, Madison, WI, USA). MOTHUR software (Schloss et al. 2009) was used for the alignment and badly aligned sequences were eliminated. The remaining sequences were identified using the Ribosomal Database Project (RDP) pipeline (Cole et al. 2007) for the bacterial sequences. Eukaryotic sequences were taxonomically identified by blasting the

sequences against nucleotide sequences (nr/nt) in the NCBI database using the BLASTn search (Note 1). Sequences were classified at the genus level when similarity $\geq 98\%$, at the class/order level when similarity $\geq 95\%$, at the sub-group level when similarity $\geq 90\%$ and at the group level when similarity $< 90\%$.

Fatty acids composition

Fatty acids methyl esters (FAME) were prepared for both the biofilm and the conditioning water by direct transesterification without prior extraction or purification using sulphuric acid-methanol (2:98, v/v) and toluene-methanol (2:3, v/v), heated at 100 °C under nitrogen (Lepage & Roy 1984). The organic phase (which contains FAME) was concentrated in hexane to 200 μ L and FAME were analyzed on a Polaris Q ion trap coupled to a Trace GC (ThermoFinnigan) equipped with a phenyl-dimethylpolysiloxane (5:95) Valcobond VB-5 (30 m x 0.25 mm id, VICIValco instruments Co. Inc., Broakville, ON, CA) capillary column with high purity helium as a carrier gas. FAME detection and quantification were performed in MSMS scan mode with the following positive ion range: $m/z = 60\text{--}650$ amu. FAME were identified via their ionic spectrum and most of them were validated by using known standards (Supelco 37 Component FAME Mix and menhaden oil, Supleco Inc., Belfonte, PA, USA). The data acquisition and treatment were done with Xcalibur v.1.3 (Thermo Scientific, Mississauga, ON, CA). Biofilm lipid quality was characterized by the mass of total fatty acids (MTFA; microgram per milligram of biofilm) and by the fatty acid composition (%).

Confocal laser scanning microscopy (CLSM)

Samples were stained for 10 min with 5 μ M Syto 61 Red (Invitrogen, Paisley, United Kingdom) before CLSM observations which were performed with a TCS-SP2 microscope (Leica Microsystems, Heidelberg, Germany) using a 63X immersion objective. Excitation and emission wavelengths were 633-nm and 645-nm, respectively. Image stacks were taken every micrometer at 4–5 random positions using Leica LAS AF software (Leica Microsystems CMS GmbH), which provides final three-dimensional (3D) images. CLSM

images were analyzed with COMSTAT software (Heydorn et al. 2000) to determine biofilm structure by estimating maximal and average thicknesses, and biovolume.

Electronic microscopy

Samples were dried to critical point with ethanol in a CPD 030 Bal-Tec Critical Point Dryer (BalTec A.G., Balzers, Leichtenstein) using CO₂ as a transitional fluid. Fives flushes of CO₂ were made to reach critical point. Samples were then mounted on aluminium stubs and coated for 2 min at 20 mA with gold/palladium alloy using a Scancoat 6 sputter coater (Edwards Ltd., Crawley, UK). The observations of biofilm community were carried out using a JSM 6460LV Scanning Electron Microscop (JEOL Ltd., Tokyo, Japan) at 10 kV voltage and with a mean 10-mm distance from the electron gun. Pictures were acquired using the SEM control User Interface v6.04 software (JEOL Ltd., Tokyo, Japan).

Data analysis

Mixed-models repeated measures and two-way ANOVAs were performed to test i) the effect of session and station on larval concentration and settlement rate in BHA, and ii) the effect of biofilm age and station on densities of newly settled post-larvae for each sampling session in BHA (from S1 to S4), respectively. Mixed-model repeated measures ANOVAs were performed for biofilm characteristics (biomass, fatty acids, abundances, diversity, and structure), and based on an autoregressive structure in order to integrate the relative distance between each biofilm age. Kenward-Roger correction was applied for the computation of errors freedom degrees when using mixed-model. To prevent Type 1 errors when analyzing the FA matrix, tests were firstly conducted on major FA groups: saturated (SFA), monounsaturated (MUFA), polyunsaturated (PUFA) and essential fatty acids (EFA). When significant effect occurred within groups, tests on individuals FA were performed by applying a sequential Bonferroni correction. Detailed fatty acids (FA) profiles of biofilm and conditioning water were compared together *via* t-test on individuals FA. The normality of the data sets was verified by a Shapiro-Wilk test and variances homoscedasticity was controlled through direct observation of residuals and data were

transformed when needed (log or BoxCox and arcsin(sqrt) for percentages). When a significant effect was observed ($p < 0.05$), *a posteriori* pairwise comparisons were performed between successive biofilm ages. Analyses were carried out using SAS v.9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Bacterial and unicellular eukaryotic SSrRNA clone libraries were analyzed separately using PRIMER v6.1.12 software (Clarke & Gorley 2006) with PERMANOVA+ v.1.0.2 (Anderson et al. 2008). Mean values of the genus richness, and the Shannon and Simpson indexes were calculated on the raw data for each biofilm age. Very useful when comparing similar ecosystems, Shannon and Simpson indexes reflect the probability that two random individuals belong to the same species. These two indexes vary in opposite ways and Simpson calculator is insensitive to rare species. Data were log (1+y) transformed in order to downweigh the importance of the highly abundant organisms (Clarke 1993) and Bray-Curtis distance measures were used to calculate the distances among the samples. Non-metric multidimensional scaling (NMDS) ordinations were performed to describe relationships among the bacterial and unicellular eukaryotic communities of replicate treatments. NMDS uses the rank of distances instead of raw-distances, thus avoiding distortions due to non-normal distribution of the abundance data (McCune & Grace 2002). PERMANOVA, which is a multivariate permutation ANOVA, was used to determine if there are significant differences among the biofilm ages in terms of bacterial and eukaryotic communities respectively. To determine which taxa contribute the most to the dissimilarity among the treatments, a one-way crossed SIMPER test was performed on raw data.

RESULTS

Influence of biofilm age on mussel settlement

The density of competent larvae in the water column differed significantly between sessions ($F_{(3,12.6)} = 8.11$, $p = 0.0029$), with no difference between stations and no session x station interaction. Ranging from 0.14 ± 0.07 (S4) to 4.0 ± 0.4 ind L^{-1} (S3), this density was significantly higher for S3 than for the three other sessions. Significant

session x station interaction was observed for the mussel settlement rates ($F_{(6,24)} = 10.19$, $p < 0.0001$), which ranged from 8.7 ± 0.1 (station I at S4) to 194.3 ± 31.5 ind $m^{-1} d^{-1}$ (station III at S2).

The effect of biofilm age on mussel settlement varied among the sessions and there were significant biofilm age x station interactions during every session. Except during the S2 session, the settlement rate was enhanced on conditioned collector, particularly once the biofilm reached two-weeks-old (Figure 19).

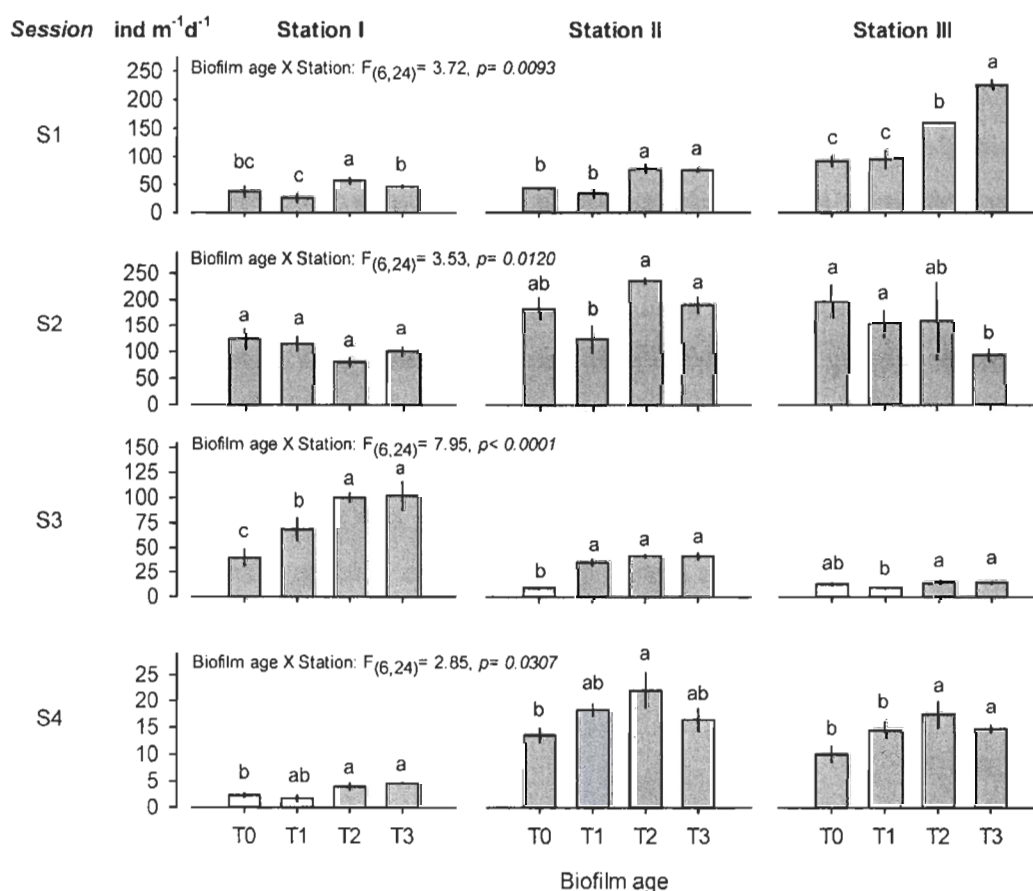


Figure 19: Mussels' settlement rate as a function of biofilm age in BHA for every session.

Mean \pm SE ($n = 3$); T0 = control and Tx = x weeks-old biofilm; results of 2-ways ANOVAs; letters indicate significant differences ($p < 0.05$). Warning on vertical scale variations.

Biofilm characterization in 2009 (S4)

The dry biomass of the biofilm attached to the substrate did not vary significantly with age (Table 6a), with a global mean value of $0.9 \pm 0.04 \text{ mg cm}^{-2}$.

Table 6: Results of repeated measures ANOVAs investigating the temporal evolution of the biofilm characteristics in 2009 (S4).

Dependent Variables	Repeated measures ANOVAs		
	F	df	p-value
<i>a) Biomass</i>	0.52	2, 5	0.6233
<i>b) Abundances</i>			
Total bacteria	14.51	2, 4	0.0126
HNA bacteria	16.52	2, 4	0.0105
Picocyanobacteria	2.61	2, 6	0.1528
Nanocyanobacteria	1.01	2, 6	0.4186
Picoeukaryotes	13.33	2, 6	0.0062
Nanoekaryotes	13.98	2, 6	0.0055
<i>c) Diversity</i>			
Bact. genus richness	1.34	2, 6	0.3292
Bact. Shannon index	1.97	2, 6	0.2195
Bact. Simpson index	1.56	2, 5	0.2972
Euk. genus richness	0.56	2, 5	0.6055
Euk. Shannon index	2.48	2, 5	0.1785
Euk. Simpson index	2.76	2, 5	0.1557
<i>d) Lipid quality</i>			
MTFA	8.64	2, 5	0.0239
Σ SFA	1.52	2, 5	0.3042
Σ MUFA	0.38	2, 5	0.7016
Σ PUFA	0.55	2, 5	0.6097
Σ EFA	5.06	2, 5	0.0629

Bold value indicates a significant effect ($p < 0.05$). Bact. = bacteria; Euk. = eukaryotes; MTFA = mass of total fatty acids; SFA, MUFA, PUFA and EFA = saturated, monounsaturated, polyunsaturated and essential fatty acids; HNA = high nucleic acids content

The bacterial community

Densities of total and high nucleic acid (HNA) bacteria increased significantly from T2 to T3 biofilms, by approximately doubling their values and reaching 7.4 ± 0.2 and 5.1 ± 0.3 millions of cells cm^{-2} , respectively (Table 6b, Figure 20a). In fact, the HNA component dominated the bacterial community, accounting from 63 to 69 % whatever the biofilm age. Concentrations of pico- and nano-cyanobacteria exhibited mean values of $1\,067.6 \pm 258.0$ and 36.8 ± 5.2 cells cm^{-2} , respectively. They did not differ significantly with the biofilm age despite the tendency for an increase, especially for picocyanobacteria (Table 6b, Figure 20b). There were no significant differences among the three treatments neither in terms of genus richness nor diversity indices of the bacteria communities (Table 6c, Figure 20e). The NMDS showed that the bacterial communities on the older biofilms T2 and T3 were more similar to each other than to biofilm T1 (Figure 20g). Results from the univariate PERMANOVAs showed an overall significant difference among the bacterial communities from the three treatments, but no significant difference was detected when doing pairwise comparisons (Table 7). The SIMPER analysis showed that 11 genera from the classes *Planctomycetacia*, *Alphaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria* and *Actinobacteria* (Table 8) explained at least 44 % of the dissimilarity between the bacterial communities from biofilm T1 and the older biofilms T2 and T3. However according to the repeated measures ANOVAs, the distribution of only two genera namely the *Alphaproteobacteria* *Loktanella* and the *Gammaproteobacteria* *Teredinibacter* was significantly different on the biofilm T1 comparatively to the older biofilms T2 and T3, where they were not detected or very low in abundance (Table 8, Appendix 1). The pie-charts (Figure 21a) show that the three main bacterial Classes on the biofilm belong to the *Planctomycetacia*, *Alphaproteobacteria* and *Gammaproteobacteria*. The *Alphaproteobacteria*, which is dominant on the T1 biofilm, seems to be gradually taken over by the *Planctomycetacia*. The *Alphaproteobacteria* decreased in proportion from 42% on biofilm T1 to only 18 % on biofilm T3, while the *Planctomycetacia* increase from 26 % on T1 to 39 % on T3. With increasing biofilm age, more bacterial classes appeared in the clone libraries; however this was not reflected in the richness and diversity

indices. There were bacterial classes unique to each biofilm age belonging to the *Gemmamonidetes* (T1), *Lentisphaeria* (T1), *Betaproteobacteria* (T2), *Acidobacteria Gp 10* (T3) and *Deinococci* (T3). There were also a few shared classes between biofilms T2–T3 (class *Caldilineae* and unclassified bacteria).

Table 7: Results from univariate PERMANOVAs investigating differences in bacterial (a) and eukaryotic (b) communities between biofilm ages in 2009 (S4).

<i>PERMANOVAs</i>		df	SS	MS	Pseudo-F / t	<i>P</i> (<i>perm</i>)	Unique perms
<i>a- Bacteria</i>							
Global	Age	2	5664.1	2832.1	1.6747	0.0133	280
	Residuals	6	10147.0	1691.1			
	Total	8	15811.0				
Pairwise	T1 vs T2				1.2667	0.0996	10
	T1 vs T3				1.5030	0.1036	10
	T2 vs T3				1.0875	0.2978	10
<i>b- Eukaryotes</i>							
Global	Age	2	937.05	468.52	1.0067	0.4766	280
	Residuals	6	2792.3	465.39			
	Total	8	3729.4				

Tx = x weeks-old bio film. Bold value indicates a significant effect ($p < 0.05$).

The eukaryotic community

From the whole unicellular eukaryotic community, picoeukaryotes were the only component whose density increased significantly from T1 to T3, by nearly quintupling its value from $9\,089 \pm 1\,231$ at T1 to $44\,888 \pm 15\,085$ cells cm^{-2} at T3 (Table 6b, Figure 20c). The nanoeukaryotes density only significantly increased from T2 to T3 biofilms, approximately doubling to $26\,509 \pm 8\,046$ cells cm^{-2} (Table 6b, Figure 20c). Similar to the bacterial communities, there was no significant difference among the three biofilms in terms of Eukaryotic genus richness (Table 6c, Figure 20f). For the unicellular eukaryotic communities, no clear patterns can be deduced from the NMDS (Figure 20h). According to the univariate PERMANOVAs, no overall significant difference was found with biofilm ageing (Table 7), confirming the observation from the NMDS calculations.

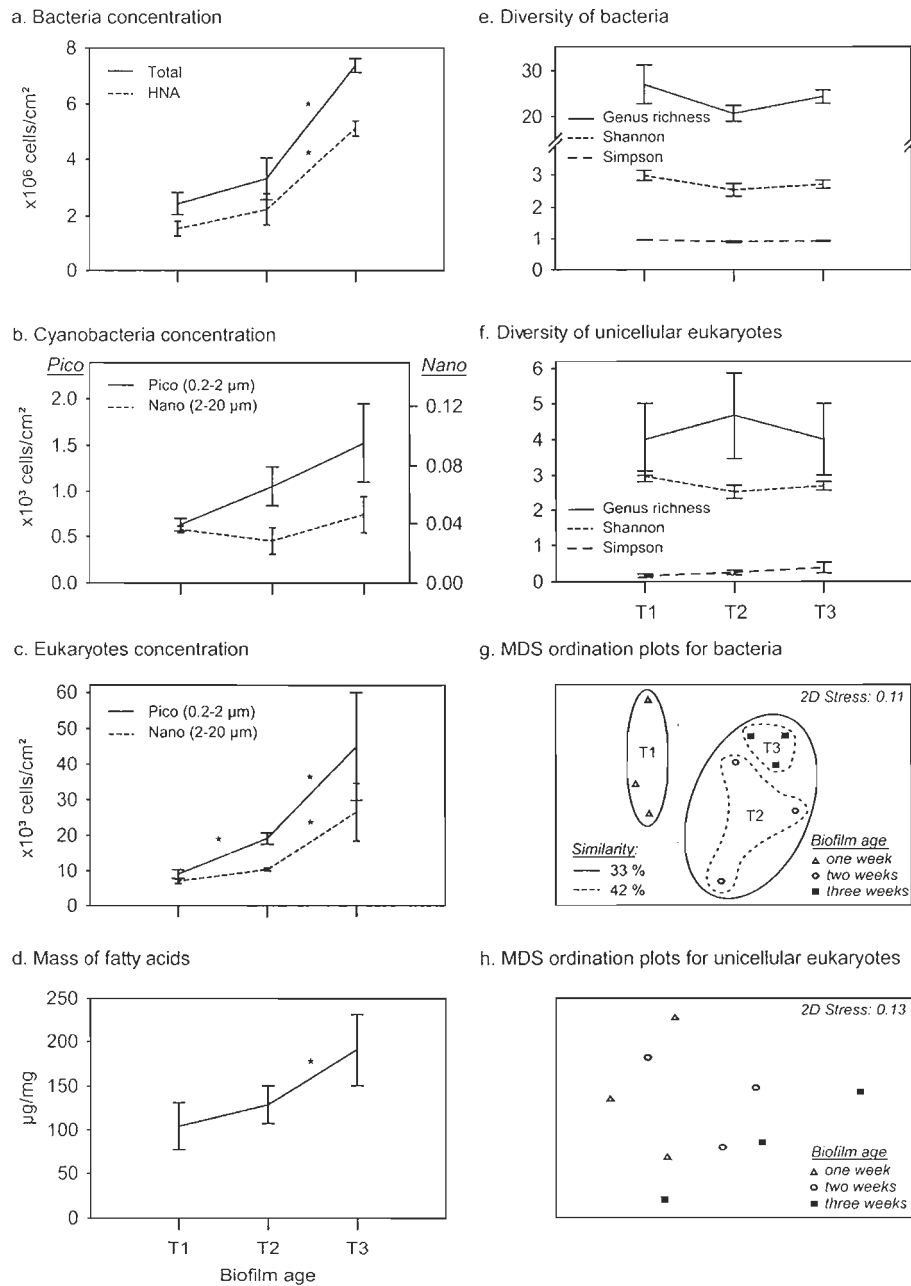


Figure 20: Characterization of bacterial and eukaryotic communities of each biofilm age in 2009 (S4).

a–c) the bacteria, cyanobacteria, and eukaryotes concentrations, d) the mass of total fatty acids of both communities confounded, e–f) diversity indexes of bacteria and unicellular eukaryotes, g–h) MDS ordination plot for bacteria and unicellular eukaryotes. Tx = x weeks-old biofilm. Mean \pm SE (n = 3). * indicate significant variations between successive points (p < 0.05).

Table 8: Results from SIMPER analysis investigating the dissimilarity in bacterial communities between biofilm ages in 2009 (S4).

Bacterial taxa	Dissimilarity (%)			Abundance (mean \pm SE)			Repeated measures ANOVAs			
	T1/T2	T1/T3	T2/ T3	T1	T2	T3	F	df	p-value	Post-hoc
<i>C. Planctomycetacia</i>										
<i>O. Planctomycetale</i>										
Planctomyces	11.2	9.7	12.5	4.7 \pm 1.7	11.3 \pm 5.2	11.7 \pm 3.7	1.66	2, 5	0.2792	ns
Unclass Planctomycetaceae	5.7	4.9	4.56	4.7 \pm 1.3	2.0 \pm 2.0	2.3 \pm 1.9	0.69	2, 6	0.5388	ns
Rhodopirellula	5.3	4.0	5.91	1.3 \pm 1.3	3.7 \pm 2.7	3.7 \pm 0.7	1.33	2, 5	0.3447	ns
Blastopirellula	2.9	2.0	4.55	2.7 \pm 0.3	1.7 \pm 1.2	3.7 \pm 1.2	1.53	2, 5	0.3040	ns
<i>C. Alphaproteobacteria</i>										
<i>O. Rhodobacterales</i>										
Unclass Rhodobacteraceae	4.1	4.1	6.47	4.7 \pm 1.3	6.0 \pm 1.7	3.3 \pm 1.9	0.65	2, 6	0.5559	ns
Loktanella	3.6	3.9		2.7 \pm 0.7	0.3 \pm 0.3	0.0 \pm 0.0	11.40	2, 6	0.0090	T1>T2=T3
Sulfitobacter	3.0	3.5		2.7 \pm 1.2	0.7 \pm 0.3	0.3 \pm 0.3	2.87	2, 6	0.1337	ns
Roseovarius	2.8	3.0		2.0 \pm 1.5	0.7 \pm 0.3	0.0 \pm 0.0	1.48	2, 5	0.3124	ns
<i>C. Gammaproteobacteria</i>										
<i>O. Enterobacteriales</i>										
Escherichia/Shigella	3.8	2.8	3.76	1.7 \pm 1.7	2.3 \pm 1.5	0.7 \pm 0.3	0.55	2, 5	0.6103	ns
<i>O. Alteromonadales</i>										
Teredinibacter	3.6	3.4		2.3 \pm 0.3	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	54.44	2, 5	0.0004	T1>T2=T3
<i>C. Actinobacteria</i>										
<i>O. Acidimicrobiales</i>										
Iamia	3.6	3.5	2.87	2.0 \pm 1.5	3.0 \pm 0.6	3.3 \pm 1.2	0.35	2, 6	0.7173	ns
Sub-total	49.6	44.7	40.7							
Total dissimilarity	66.05	66.8	58.1							

Tx = x weeks-old bio film. C = class; O = order; Unclass = unclassified; ns = non-significant. Bold value indicates a significant difference (p < 0.05).

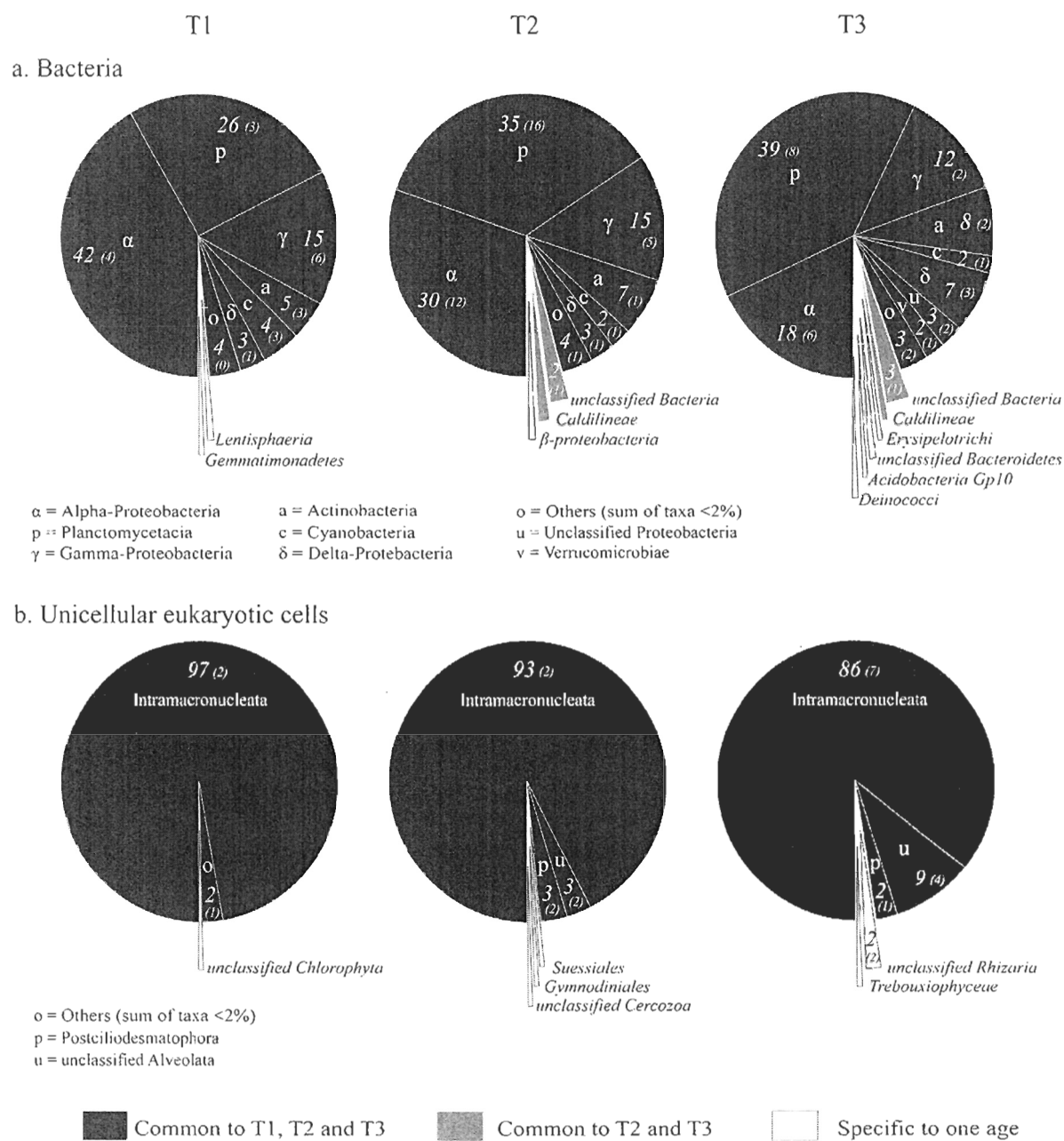


Figure 21: Composition of a) bacteria and b) unicellular eukaryotes communities of each biofilm age in 2009 (S4).

At the class hierarchy level. Tx = x weeks-old biofilm. Mean (SE) relative proportions (%) are presented when $\geq 2\%$.

As the biofilm ageing did not show significant difference in terms of unicellular eukaryotic communities, SIMPER analysis was not performed on those communities. The pie-charts representing the unicellular eukaryotic composition (Figure 21b) showed that the biofilm community was dominated by the Alveolata, especially ciliates in the Order Intramacronucleata which represented 97 % of all clones from the biofilm T1, 92 % from T2 and 83 % from T3. The BLAST results indicated that the majority of the Intramacronucleata were closely related to the genus *Zoothamnium* (Appendix 2). Other Eukaryotes included representatives within the Suessiales (T2) and Gymnodiniales (T2) (Dinophyceae); and within the Chlorophyta were representatives of the Trebouxiophyceae (T3) and unclassified Chlorophyta (T1); Unclassified Rhizaria (T3) and unclassified Cercozoa (T2) were also recovered. Only the unicellular eukaryote classes are included in Figure 21b, while the multi-cellular eukaryotes (Metazoa) are listed in the Appendix 2. The four metazoan sub-groups found on the biofilm were Rotifera, Cnidaria, Arthropoda and there were also unclassified Metazoa, which according to the BLAST results were closest to the copepod *Harpacticus*.

The biofilm fatty acids composition

The mass of total fatty acids (MTFA) increased with the biofilm age (Table 6d), but varied significantly only from T2 to T3 treatments where it increased from 128.9 ± 21.5 to $191.0 \pm 40.3 \mu\text{g mg}^{-1}$ of biofilm (Figure 20d). Since no significant temporal variations were detected for the sum of saturated (SFA), monounsaturated (MUFA), polyunsaturated (PUFA) and essentials fatty acids (EFA) on the biofilm (Table 6d) only the mean profile is presented in Table 9. The biofilm lipids were made of 33 % SFA, 27 % MUFA, 40 % PUFA, and 17 % EFA. The mean fatty acids composition of the conditioning water differed significantly from the biofilm, with higher proportions of SFA (48 %) and MUFA (31 %), a lower content of PUFA (21 %), but statistically similar rate of EFA (14 %). Seven fatty acids contributed to these differences: myristic (MA, 14:0), palmitic (PA, 16:0) and palmitoleic acids (16:1 ω -7) were in lower proportions in the biofilm whereas cis-10-

pentadecenoic (15:1 ω -5), hexadecadienoic (16:2 ω -6), octadecadienoic (18:2 ω -9) and arachidonic acids (AA, 20:4 ω -6) were in greater contents.

Table 9: Fatty acids profiles of the biofilm and the conditioning water in 2009 (S4).

FA	Biofilm	Water	t-value
ai14:0	1.3 \pm 0.1	0.9 \pm 0.1	4.52
14:0 (MA)	2.9 \pm 0.1	5.8 \pm 0.3	-8.50 *
i15:0	3.0 \pm 0.3	1.6 \pm 0.1	5.01
ai15:0	3.6 \pm 0.1	2.8 \pm 0.1	5.15
15:0	1.5 \pm 0.0	1.4 \pm 0.1	1.19
16:0 (PA)	10.1 \pm 0.5	18.9 \pm 1.0	-8.04 *
i17:0	1.4 \pm 0.2	0.5 \pm 0.0	4.32
17:0	1.0 \pm 0.0	1.0 \pm 0.0	-1.69
18:0 (SA)	5.4 \pm 1.0	10.4 \pm 0.9	-3.73
22:0	0.6 \pm 0.1	1.1 \pm 0.1	-3.67
24:0	0.7 \pm 0.1	1.6 \pm 0.2	-4.29
Σ SFA	32.9 \pm 1.0	48.1 \pm 1.2	-9.39 *
15:1 ω -5	2.9 \pm 0.3	0.5 \pm 0.1	9.15 *
16:1?a	1.8 \pm 0.2	0.8 \pm 0.0	4.00
16:1 ω -9	0.9 \pm 0.2	1.6 \pm 0.4	-1.37
16:1 ω -7	5.6 \pm 0.4	10.1 \pm 0.4	-7.98 *
18:1 ω -9	2.6 \pm 0.1	4.6 \pm 0.5	-3.89
18:1 ω -7	7.1 \pm 0.1	6.1 \pm 0.4	2.74
22:1 ω -7	0.5 \pm 0.1	0.9 \pm 0.1	-2.72
Σ MUFA	26.8 \pm 0.4	30.9 \pm 1.1	-3.42 *
16:2 ω -6	9.1 \pm 0.4	0.9 \pm 0.1	18.33 *
18:2 ω -9	5.0 \pm 0.6	0.3 \pm 0.0	12.42 *
18:2 ω -6	1.4 \pm 0.1	1.9 \pm 0.1	-3.38
18:3 ω -3	1.8 \pm 0.1	1.5 \pm 0.1	1.84
18:4 ω -3	1.2 \pm 0.1	0.6 \pm 0.1	6.64
20:4 ω -6 (AA)	3.1 \pm 0.2	0.9 \pm 0.0	10.69 *
20:5 ω -3 (EPA)	9.5 \pm 1.1	5.6 \pm 0.8	2.82
22:5 ω -3 (DPA)	0.8 \pm 0.2	0.7 \pm 0.1	0.18
22:6 ω -3 (DHA)	4.5 \pm 0.4	5.3 \pm 0.8	-0.84
Σ PUFA	40.3 \pm 0.9	21.1 \pm 1.5	10.82 *
Σ EFA	17.2 \pm 1.6	13.9 \pm 0.6	1.94

† Data are mean percentage (\pm SE, n = 2 for conditioning water and 3 for biofilm).

‡ FA were selected when detected at a level exceeding 1% in at least one component. Identified, but non-presented FA were: 17:0 anteiso; 20:0; 21:0; 22:0; 24:0; 14:1?; 14:1 ω -5; 15:1?; 15?; 16:1 ω -5; 16:1?b; 17:1?a; 17:1 ω -7; 17:1b; 20:1 ω -11, ω -9 and ω -7; 22:1 ω -11, ω -9 and ω -7; 24:1 ω -9; 18:2?; 20:2 NMI; 20:2 ω -6; 22:2 NMI; 18:3 ω -6; 18:3?; 20:3 ω -6 and 22:5?.

* indicate significant difference between biofilm and conditioning water results (ddl = 4; p < 0.05).

SFA, MUFA, PUFA and EFA: saturated, monounsaturated, polyunsaturated and essential fatty acids. AA, EPA, DPA, DHA: arachidonic, eicosapentanoic, docosapentanoic and docosahexanoic acids.

The biofilm structure

The confocal laser scanning microscopy (CLSM) analysis revealed that biofilm spatial structure varied with the biofilm age. Every structural parameters were minimal on T2 and maximal on T1, with biovolume ranging from 6.1 ± 0.5 to $12.7 \pm 1.7 \mu\text{m}^3 \mu\text{m}^{-2}$, average thickness from 11.5 ± 1.6 to $26.7 \pm 6.1 \mu\text{m}$, and maximal thickness from 26.0 ± 0.8 to $43.7 \pm 4.1 \mu\text{m}$. Nevertheless, even if they were significantly lower on T2 than on T1 and T3, no significant differences occurred between T1 and T3 (Table 10). Slides of biofilm revealed that substratum was widely covered with a few non colonized spaces, and that biovolume and thickness mainly related to the presence of ciliates (Appendix 3).

Table 10: Physical characterization of the growing biofilm and effect of the biofilm age in 2009 (S4).

Dependant variable	Biofilm age			Repeated measures ANOVAs			
	T1	T2	T3	F	df	p-value	Post-Hoc
Biovolume ($\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$)	12.73 ± 1.65	6.09 ± 0.45	9.74 ± 0.84	13.48	2, 9	0.0020	T1 T3 T2
Average thickness (μm)	26.73 ± 6.09	11.48 ± 1.64	20.95 ± 2.13	6.45	2, 9	0.0183	T1 T3 T2
Maximal thickness (μm)	43.74 ± 4.07	25.99 ± 0.76	33.85 ± 4.29	7.91	2, 8.13	0.0124	T1 T3 T2

Tx = x weeks-old biofilm. Data acquired via confocal laser scanning microscopy analysis
Mean \pm SE; n = 3, 5, and 4 for T1, T2, and T3 respectively)

The biofilm imaging

The scanning electronic microscope (SEM) was used to produce images of the biofilm at different ages (Appendix 4). Some bacteria, diatoms, dinoflagellates-like cells, ciliates and several unidentified organisms were observed. The structure itself of the biofilm was very patchy with important non-colonized spaces. Bacteria were rarely clustered and thus did not grow in traditional bacterial biofilm form. Diatoms were mainly pennates with *Thalassionema nitzschioides* in every treatments, *Amphora sp.* and *Tabularia tabulate* on T1 and T2, and *Navicula sp.* on T1 and T3. *Paribellus delognei* and *Pteroncola inane* were specific to T1 biofilm whereas *Lunella sp.*, *Cocconeis stauroneiformis*, *Cocconies disculus* and the centric *Thalassiosira nordenskioeldii* were observed only on T2 biofilm. *Navicula gregaria* was found on both T2 and T3 and *Cocconeis scutellum* only on

T3 treatment. The morphological state of dinoflagellate-like cells did not allow to confirm the further identification but such structures were absent on T1 biofilm. The choanoflagellate *Volkanus costatus* was observed on all biofilms, whereas *Acanthoea spectabilis* was present only on T1. SEM pictures of eukaryotes corroborated the results of the genetic analyses as ciliophora were very abundant on all biofilms, and mostly settled in aggregate or colonies rather than as single-cells. However, SEM observations differed from the genetic results for i) diatoms and choanoflagellates, as they were only observed through SEM, and ii) copepoda and nematods, as they were only detected in gene clone banks. Finally, as in the clone libraries, cnidaria-like structures were observed only on T1 biofilm pictures.

DISCUSSION

The mussel settlement

Studies in chemical ecology show that natural products drive complex ecological interactions at all stages of marine plant and animal life histories (Clare 1996, Paul et al. 2006), and that macrofouling is regulated by microfouling community *via* allelopathic relations (Wieczorek & Todd 1998, Dobretsov et al. 2006, Qian et al. 2007). An important first step in this process is the formation of biofilms by the micor fouling community. This study experimentally examined i) how the biofilm community structure changed with time on artificial surfaces immersed in natural seawater and ii) how these changes could impact mussel settlement. The effects of the biofilm age on settlement differed relative to sessions and stations, in a lagoon where the mussel settlement rate also exhibits an important spatio-temporal variability (Toupoint et al. Submitted). But globally, the relationship was positive as *M. edulis* settlement was enhanced with conditioned substratum, even if such trend was not observed during the S2 session. Various responses may occur as the biofilm is affected by environmental conditions (Bao et al. 2007a). In our study, salinity was stable (Toupoint et al. Submitted) and only 5 °C variations of temperature were recorded between sessions, suggesting the need for other explanations. During the S2 session (10–14 July 2008), a

major pulse of planktonic picoeukaryotes likely triggered the major mussel settlement peak (Toupoint et al. Submitted), which occurred simultaneously with the same intensity at all sampled stations. Thus, it can be hypothesized that mussel settlement depends on both biofilm and pelagos cues, which act in a hierarchical order with planktonic cues being prominent. The effect of biofilm age on invertebrate settlement was thought to rely on specific chemical components mostly present at the substratum surface rather than in the surrounding waters (Hadfield 2011) but to our knowledge, the planktonic component has never been studied as an additional factor in the biofilm–settlement interactions. That could explain the contradictory results reported on the role of biofilms in the settlement process (Hadfield 2011).

In the present study, fouling organisms were hypothesized to be an important trophic resource for mussels during a crucial larval stage. Depending on several endo- and exogenous factors including the biofilm (Thiyagarajan 2010), competent larva should “find” an adequate surface to settle and achieve their metamorphosis in post-larva. But, a settling larva is in a very paradoxical state: they have a very limited feeding ability during a highly energy consuming developmental stage. In fact, their velum has degenerated, their gills are not yet functional (Bayne 1971) and pedal-feeding may be used to acquire food (Veniot et al. 2003, Cannuel et al. 2009). At the same time, mussels need to have sufficient trophic resources to ensure post-larval growth and to resist adverse early post-settlement events (Hunt & Scheibling 1997). Such paradox could be all the more critical in oligotrophic conditions, such as in the coastal lagoons of the Îles de la Madeleine (Trottet et al. 2007) where this study was conducted. Because of this need for high quality food at the time of settlement, biofilm lipid quality was hypothesized to be a criterion for habitat selection, since this would provide to larva essential fatty acids (EFA) needed for growth, development and survival (see review of Glencross 2009). However, no relationships were found between settlement rate and either the total mass or the composition of fatty acids in biofilm. In contrast, we found that the increase of mussel settlement with the biofilm age was related to the biofilm quantity rather than its lipid quality.

The presence of a developed biofilm on settlement surfaces could provide potential food for larvae and post-larvae using pedal-feeding, and particularly when there is little amount of plankton available. Previous studies have demonstrated that benthic trophic resources could sustain a normal growth of bivalve post-larvae (Ó Foighil et al. 1990, Gatenby et al. 1997). In the present study, mussel settlement was enhanced on biofilms older than one week globally characterized by higher abundances of picoeukaryotes, and we hypothesize that cell density in biofilms could be a key factor during the settlement phase. Although there was no significant increase in total biomass, both bacteria and eukaryotes abundances increased with biofilm age and a decrease of the mean cell size with the time of conditioning could be supposed. The composition and cell density of communities in biofilms may serve as signposts for invertebrate larva to select habitats (Lau et al. 2005), but little is known about functional role of the biofilm (Palmer & White 1997). In addition, the absence of relationship between biofilm and mussel settlement during a phytoplanktonic bloom (S2 session) could relate to the requirement of pelagic food for post-larvae to ensure optimal growth (Ó Foighil et al. 1990) and survival (Gatenby et al. 1997).

Globally, total recruitment of invertebrate larvae is reported to increase with the biofilm age (Keough & Raimondi 1995) however the effect on settlement is species dependent (Keough & Raimondi 1996, Wieczorek & Todd 1998, Olivier et al. 2000, Qian et al. 2007). Similar to previous studies conducted with mussels (Bao et al. 2007a, Peteiro et al. 2007), we found a clear increase of *M. edulis* settlement with the biofilm age. Increased larval settlement on the older biofilms coincided with the dominance of *Planctomycetes* in bacterial community and the appearance of several unicellular eukaryotes, which were absent on the one-week old biofilm. Although there was no clear distribution pattern in terms of 18S rRNA gene sequence recovered, microscopic observation indicated that the 2 and 3 week old biofilms were similar, with both harboring dinoflagellates, diatoms (e.g., *Cocconeis* sp. or *Navicula gregaria*), and choanoflagellates (*Acanthoeca spectabilis*). As the composition of natural biofilms is the result of many interactions among species, it remains difficult to determine if specific species could be

more important for the induction of mussel settlement. Such results highlight the critical need to characterize both bacterial and eukaryotic communities in the biofilm/settlement studies.

Both quantitative and qualitative shifts in density, metabolic activity, and species composition (Wieczorek & Todd 1997) influence mussel larvae settlement (Todd & Keough 1994). Bacteria are the key mediators of reactive compounds between the substrate and the larvae (Satuito et al. 1995, Bao et al. 2007a) with larvae responding chemical cues from surfaces and surrounding waters (Bao et al. 2007b). The response of larvae (settlement inhibition or induction) has been reported to be influenced by bacterial species (Ganesan et al. 2010) such as *Pseudoalteromonas* sp. stimulating the invertebrate settlement (reviewed by Hadfield 2011). However, the inductive capacity of a single species could be modified in natural communities where there is a multitude of other species (Tran & Hadfield 2011). Eukaryotes especially diatoms have also been reported to enhance larval settlement (Avendano-Herrera et al. 2003, Van Colen et al. 2009). This is particularly true when they are associated to bacteria (Chiu et al. 2007, Leyton & Riquelme 2008), and Rahim et al. (2004) hypothesized that the induction of larval metamorphosis requires a synergistic effect between diatoms and bacteria.

Finally, further biofilm/settlement studies should also integrate a characterization of the extracellular polymeric substances (EPS). Secreted by epibenthic microorganisms (Qian et al. 2007), EPS form a matrix that embedded organisms and whose composition is highly variable according to species, cells, and trophic conditions in the environment (Stal 2003). The recognition of quorum sensing signals (see review of Dobretsov et al. 2009) is based on the secretion of EPS that contribute to the formation and the maturation of the biofilm, by influencing the colonization of marine organisms. For example, settling bryozoans larvae are attracted by biofilms that do not produce proteolytic enzymes (Dobretsov et al. 2007). But an interesting point is that EPS could also constitute a consistent trophic resource for biofilm consumers (Decho 1990, Wotton 2004).

Biofilm community: the bacteria

Palmer and White (1997) showed, in low hydrodynamic regime, that bacterial cells concentrations tend to increase over a three-week conditioning period, reflecting continuous biofilm development. In a study performed in a streamwater ecosystem characterized by slow water flow, Battin et al. (2003) observed a drastic decrease in biofilm biomass after 25 days of incubation although highest bacterial density was at 2 weeks (Battin et al. 2003). In the present study, there was no such decline, possibly because of the presence of grazers in the conditioning tank was limited and that the conditioning period was shorter (21 days).

The separation of the bacterial community into low- and high-nucleic acid bacteria (LNA and HNA respectively) is possible using flow cytometry (FCM) analysis. The LNA group is usually considered as the 'inactive' part of the bacterial community, although there is no consensus, for example, Wang et al. (2009) found freshwater LNA and HNA bacteria were two independent groups that differ by their size and their optimal trophic conditions. We found that all of the biofilms were dominated by high-nucleic acid bacteria, which could be interpreted as all bacteria were healthy or growing under similar trophic conditions. FCM results also indicated that cyanobacteria were a very small part of both pico- and nano sized cells on the biofilms in the present study and their abundance did not vary with the biofilm age. In addition, cyanobacteria were not detected in either clone libraries or by SEM. Such low concentrations could be explained by their association to exposed rather than sheltered shores (Thompson et al. 2005) as in the lagoons.

Bacterial communities differed with biofilm age as reported earlier in Delaware Bay (Jones et al. 2007), but in contrasts with the study of Campbell et al. (2011) in a closed southern site of Chesapeake Bay, where no difference in bacterial community was found. The high similarity between two- and three-weeks-old biofilm suggest a stability phase reached after the first week. Thus, a community specialization or a stochastic colonization could be hypothesized after the first week of biofilm development. As described by Dang et

al. (2008), some initially attached bacteria may leave the surface due to the rapid utilization of the nutrients that originally accumulated on the submerged surfaces. This implies that the chemical composition of the surface is different from initial conditions. This might explain the decrease in the proportion of *Alphaproteobacteria* relative to the *Planctomycetacia* after one-week incubation. Dang et al. (2008) also suggested that the last steps of bacterial biofilm colonization may imply a shift in surface colonizing community due to some bacterial cells leaving the surface to avoid overcrowding. The main bacterial classes that cause the dissimilarity between one-week old and the older biofilms were among those which dominated the biofilms, the *Planctomycetacia*, *Alphaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria* and *Actinobacteria*. The two genera (*Loktanella* and *Teredinibacter*), which accounted significantly for the dissimilarity either disappeared or may have been too low in abundance on the older biofilms.

There were no significant differences in terms of diversity indices at the genus level among the three treatments. This suggests that even though FCM indicated an increase in bacterial cells with conditioning time, the bacterial community stayed stable in terms of composition and the abundance increased proportionally among the genera. The class taxonomical level revealed a more organized pattern: the *Planctomycetacia* and the *Proteobacteria* classes (alpha-, gamma- and delta-) were common to all biofilm ages, representing at least 76 % of the communities. *Alphaproteobacteria* dominated the bacterial community on the one-week old biofilm, with *Rhodobacterales* representing the major order. *Rhodobacterales* are the most common and dominant bacterial group of primary surface-colonizers in temperate coastal marine waters (Dang & Lovell 2000, Jones et al. 2007, Dang et al. 2008). These bacteria play important roles in marine ecosystems because they use nutrients at the fastest rate and provide biomass and EPS very rapidly to the late-stage colonizers (Dang et al. 2008, and references therein). On the older biofilms (two- and three-weeks old), more than one-third of the bacterial taxa belonged to *Planctomycetacia*, with *Planctomyces* representing the major genus. *Planctomycetes* is a remarkable bacterial phylum that possesses distinct features (Fuerst & Sagulenko 2011). They are widely distributed in freshwater, marine, hypersaline and even terrestrial soil habitats, and their

dominance may indicate slight eutrophication (Fuerst 1995). High abundances of this clade were already observed on a estuarine sandy bottom biofilm (46 % of the community, Nocker et al. 2004) and on macroalgae, for example, on the kelp *Laminaria hyperborea* where Bengtsson and Øvreås (2010) found *Planctomycetes* predominant. *Planctomycetes* tend to prefer a biofilm lifestyle, adhering to surfaces in aquatic systems such as marine sediments (Gray & Herwig 1996), diatom cells, seaweeds and other macrophytes. However other bacteria are also typically found in biofilms for example Lee et al. (2008) found that marine biofilms were initially dominated by the *Gammaproteobacteria* during the first nine hours of incubation after which the *Alphaproteobacteria* took over the bacterial community.

The bacterial contribution was reflected in the fatty acids (FA) profile of the biofilm as bacterial biomarkers were present in consistent proportions (13 %) such as odd-numbered chain (15:0, 17:0, 15:1 ω -5) and anteiso/iso branched FA (ai14:0, i15:0, ai15:0, i17:0). The higher proportion of pentadecenoic acid (15:1 ω -5) in the biofilm would suggest a higher bacterial concentration than in the surrounding water. In addition, palmitoleic (16:1 ω -7) and octadecenoic (18:1 ω -7) monounsaturated FA (MUFA) were found in high proportions in both biofilm (6 and 7 %) and conditioning water (10 and 6 %) and could reflected the bacterial contribution. Nevertheless, such biomarkers should be used carefully as they could also come from diatoms or cyanobacteria (reviewd by Dalsgaard et al. 2003).

Finally, CLSM analysis corroborated the description by Palmer et al. (1997): the biofilm is multi-layered and its growth is a four-dimensional (x, y, z, and t) process. CLSM pictures showed well covered surfaces, with few open spaces even though organisms (including bacteria) were very scattered. Such contradictory observations may be explained by the sample preparation for SEM, such as dehydration in successive anhydrous bath or dessication, which would lead to highest degradation than in CLSM procedures.

Biofilm community: the eukaryotes

The eukaryotes' abundance increased along with the development of the biofilm. Battin et al. (2003) also reported a regular increase of the chlorophyll a content with the biofilm development. In the present study the picoeukaryotes made up a large and dynamic fraction of the biofilm as they dominated the photosynthetic community and their abundance increased with biofilm age. Probably the most abundant eukaryotes in worldwide marine waters, the picoeukaryotes are phylogenetically diverse, with representatives in most algal classes (Diez et al. 2001, Moon-van der Staay et al. 2001). Their ecological role is considered important in the water column of coastal lagoon environments (Courties et al. 1994) but to our knowledge, there have been no reports of picoeukaryotes in biofilm.

There was no clear pattern in terms of the eukaryotic distribution of one-, two-, and three-week old biofilms, suggesting that communities were quite similar to each other and was not very diverse. The ciliate class Intramacronucleata was dominant throughout the experiment. These results are in contrast with earlier observations where diatoms are primary colonizers after bacteria (e.g. Railkin 2004). The Intramacronucleata are characterized by sessile forms (e.g., *Zoothamnium* sp.) and are bacterial suspension feeders (Gast 1985). Their tree-like shape helps to produce water currents that may indirectly modify the community structure of biofilm by modulating the nutrient concentration in both inner biofilm and surrounding water (Vopel et al. 2002). For example, the presence of ciliates indirectly increase the food fluxes to other suspension feeders (Ackermann et al. 2011, and references therein). CLSM and SEM observations confirmed the presence of ciliates, with both individual cells and aggregates, in the all three biofilm treatments. They were the largest organisms present on the substratum and their relative abundance would influence biovolume and thickness of the biofilm.

Dinophyceae were only detected on two- and three-weeks-old biofilms *via* both genetic and SEM analyses, although specimens observed on SEM could not be

taxonomically identified. SEM pre-treatment procedure was not optimal for dinoflagellates. There are 160 living forms of benthic marine dinoflagellates reported (Taylor et al. 2008) but most have not been characterized by their 18S rRNA gene and the species composition of the biofilm is uncertain. Finally, the presence of dinoflagellates on biofilms is suggested by the occurrence of their FA biomarkers: oleic (18:1 ω -9; OA), docosahexaenoic (22:6 ω -3; DHA) and arachidonic (20:4 ω -6; AA) acids (Dalsgaard et al. 2003, Wilson et al. 2010). In fact, higher rate of AA in the biofilm suggests a greater dinoflagellates density than in surrounding water. Nevertheless, FA biomarkers might be cautiously used to evaluate the taxonomical composition as no dynophyceae were observed on young biofilms, where OA, DHA, and AA were still found.

Hexadecadienoic (16:2 ω -6) and octodecadienoic acids (18:2 ω -9) were found almost exclusively on the biofilms relatively to the surrounding water and were dominant PUFA. The hexadecadienoic, a potential precursor of linoleic (18:2 ω -6) or α -linolenic acids (18:3 ω -3) EFA, is mainly synthesized in chlorophyta (Parrish 2008, and references therein). In addition, Parrish et al. (1991) detected consistent proportions of this FA in toxic marine diatoms (*Nitzschia pungens*) grown in silicon-limited conditions. In fact, Volkman et al. (1989) suggested to use the hexadecadienoic acid in addition to the hexadecatrienoic and hexadecaquadrienoic acids (16:3 ω -3 and 16:4 ω -3) in ecological studies to estimate the relative abundance of diatoms and green algae in mixed algal samples. In the present study, this FA may mostly relate to diatoms (chlorophyta were identified only in 1 and 3 weeks-old biofilms), which seem to be characteristic of the biofilm. Classically, benthic diatoms are considered to be the dominant clade and primary colonizers after bacteria (Railkin 2004). The octodecadienoic acid is not a specific biomarker but a precursor of eicosatrienoic (20:3 ω -9) highly unsaturated FA (Bell & Tocher 2008). High quantities of octodecadienoic acid may reflect either conditions of EFA deficiency or great activity of $\Delta 6$ desaturase (Sargent et al. 1995). In the present study, relatively high proportions of EFA in both biofilms and conditioning water (14–17 %) are not indicative of EFA deficiency but rather suggest a high enzymatic activity.

The metazoan community on the biofilm cannot be precisely identified as many of them are motile, except for the Cnidaria which were detected both in the clone libraries and on SEM pictures. Cnidarians are sessile organisms which depend on the chemical cues from the microbial biofilm for their settlement and they are thought to chemically inhibit diatom growth (Wilsanand et al. 2001), but this is contradictory to the SEM results which detected a variety of diatoms. The other metazoans (Rotifers and Arthropods) detected in the clone libraries are highly motile organisms which were probably attracted by the agglomeration of protists on the biofilm and thereby represent an attractive feeding ground.

Such results highlight the need to perform different techniques of analysis when characterize biofilm. Indeed, every method includes specific bias that leads to a misrepresentation of the real picture, and the compilation of several analysis permit to improve the detection threshold.

CONCLUSION

The first hypothesis (H1) was validated in normal conditions of planktonic production in the oligotrophic BHA (S1, S3, and S4 sessions). The mussel settlement related to the biofilm age, with a global enhancement on biofilm older than one week. The increase in mussel settlement was related to a shift from bacterial to eukaryotic communities, mainly to picoplankton (0.2–2 μm), in the biofilm. However, in conditions of phytoplanktonic bloom (S2 session), such relationship was not observed. This is probably because cues from the water column were stronger than from the biofilm. Further, this cue was based on a peak of picoeukaryotes in the water column. The second hypothesis (H2) was invalidated as essential fatty acids (EFA) proportion in biofilm did not change with ageing, preventing to link mussel settlement to the biofilm lipid quality. The mussel settlement enhancement with biofilm ageing rather related to the quantity of the biofilm, which could be an important source of food for settling larva, particularly when planktonic trophic resource is limited as in the oligotrophic lagoons of the Îles de la Madeleine. Analysis of post-larval fatty acids content in post-larvae could provide additional

information to test the trophic role of biofilm, and an experimentation dealing with picoeukaryotes only would permit to emphasize their specific role in biofilm.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by the Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ), the Société de Développement de l'Industrie Maricole (SODIM), the Réseau Aquaculture Québec (RAQ), the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC), the Canada Research Chairs Program (CRC) and the Canada Foundation for Innovation (CFI). We thank the technical staff of the Centre maricole des Iles-de-la-Madeleine (CeMIM, Cap-aux-Meules, Qc, CA), of the Institut des Sciences de la Mer (ISMER, UQAR, Rimouski, Qc, CA) and of the Laboratoire de Biotechnologie et Chimie Marine (LBCM, UBS, Lorient, FR). We address a special thank to Marie-Josèphe Chretiennot, Véronique Martin-Jézéquel (Nantes University, France), André Rochon (Institut des Sciences de la Mer, Rimouski, Québec), Sylvie Lessard (Institut Maurice Lamontagne, Québec, Canada) and Michel Poulin (Canadian Museum of Nature, Ottawa, Canada) for their helping in the identification of specimens on SEM pictures. Finally, we acknowledge the local shellfish farmers (Moules de Culture des Iles Inc and Grande-Entrée Aquaculture Inc.), but also Gaétan Daigle, from the Département de mathématique et statistique de l'Université Laval (Québec, QC, CA).

Notes

1. Source code for the new BLAST programs is available by anonymous ftp from the machine ncbi.nlm.nih.gov, within the directory 'blast', and the programs may be run from NCBI's web site at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.

APPENDIX I

Bacterial composition of the biofilm identified at each age through 16S rRNA sequences analysis. Values are number of sequences (a, b, c = replicates).

Phylum	Class	Order	Genus	T1			T2			T3		
				a	b	c	a	b	c	a	b	c
Unclassified Bacteria				0	0	0	1	2	0	1	1	2
Actinobacteria	Actinobacteria	Acidimicrobiales	unclassified Acidimicrobineae	0	0	0	0	0	0	0	0	1
			Iamia	0	5	1	3	4	2	5	1	4
			Illumatobacter	0	0	1	1	0	0	0	0	0
		Actinomycetales	unclassified Frankineae	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Firmicutes	Erysipelotrichi	Erysipelotrichales	Erysipelothrix	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Bacteroidetes	incertae sedis	incertae sedis	Fulvivirga	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Lewinella	0	1	0	0	0	0	0	0	0
			Haliscamenobacter	0	0	0	0	0	2	0	0	0
			Salisaeta	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Flavobacteria	Flavobacteriales	unclassified Cryomorphaceae	0	0	0	0	0	0	1	0	1
			Aestuariicola	0	0	0	0	1	0	0	0	0
			Winogradskyella	0	1	0	0	0	0	0	1	0
Proteobacteria	unclassified			1	0	1	0	1	0	0	1	3
	Deltaproteobacteria	unclassified		1	0	0	1	1	0	3	1	5
				0	0	0	0	0	1	0	0	0
		Bdellovibrionales	Bdellovibrio	0	0	0	0	0	1	0	0	0
			unclassified Bacteriovoraceae	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		Peridibacter		1	0	0	0	0	0	0	0	0
				0	0	0	0	0	0	1	0	0
		Desulfobacterales	Desulfosarcina	0	0	0	0	0	0	1	0	0
				1	0	0	0	0	0	0	0	0
		Myxococcales	Sorangium	0	1	0	0	0	0	0	0	0
			Kofteria	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	Betaproteobacteria	unclassified	unclassified Nannocystaceae	0	0	0	0	1	0	0	0	0
				0	0	0	0	1	0	0	0	0
		Burkholderiales	Achromobacter	0	0	0	0	1	0	0	0	0
				0	0	0	0	0	1	0	0	1
		Alphaproteobacteria	Rhizobiales	unclassified Phyllobacteriaceae	0	1	0	0	0	0	0	0
				Pseudaminobacter	1	0	0	0	0	0	0	0
				0	0	0	0	0	0	0	0	1
				0	0	0	0	1	0	0	0	0
				0	0	0	0	1	0	0	0	0
				0	0	0	0	2	2	0	0	0
				0	0	0	0	0	0	0	0	1
				0	0	0	0	0	0	0	1	0
				0	0	0	0	1	0	0	0	0
				0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Parvularculales	Parvularcula	0	0	0	0	1	0	0	0	0
				1	1	0	0	0	0	0	0	0
	Caulobacterales	unclassified Hyphomonadaceae		0	0	0	0	0	0	0	1	0
				1	0	0	0	0	0	0	0	0
		Hellea		1	0	0	0	0	0	0	0	0
				1	0	1	0	1	0	1	0	0
		Hirschia		1	0	0	0	0	0	0	0	0
				1	0	0	0	0	0	0	0	0
		Hyphomonas		1	0	0	0	1	0	0	0	0
				1	0	0	0	0	0	0	0	0
		Rickettsiales	Orientia	1	0	0	0	0	0	0	0	0
			Pelagibacter	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Rhodospirillales	unclassified Rhodospirillaceae		1	1	0	0	0	0	0	0	0
				0	0	1	0	0	0	1	0	0
	Sphingomonadales	Sphingopyxis		1	0	0	0	0	0	0	0	0
				1	0	0	0	0	0	0	0	0
		Croceicoccus		1	0	0	0	0	0	0	0	0
				0	1	0	0	0	0	0	0	0
	Kordiimonadales	Kordiimonas		6	2	6	3	6	9	1	7	2
				0	2	0	0	0	0	3	1	0
		Octadecabacter		0	2	0	0	0	0	0	0	0
				1	0	0	0	0	1	0	0	0

Phylum	Class	Order	Genus	T1			T2			T3		
				a	b	c	a	b	c	a	b	c
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Sulfitobacter	1	5	2	0	1	1	1	0	0
			Thalassobacter	2	1	0	0	0	0	0	0	0
			Tateyamaria	0	0	1	0	0	0	0	0	0
			Pelagicola	0	2	0	0	0	0	0	2	0
			Loktanella	2	4	2	0	0	1	0	0	0
			Thalassobius	0	0	1	0	0	0	0	0	0
			Ruegeria	1	0	0	0	0	0	0	0	0
			Roseisalinus	0	0	0	0	0	0	0	0	1
			Jannaschia	0	1	0	1	0	3	0	0	0
			Shimia	0	0	0	0	0	0	0	1	0
			Rhodovulum	0	0	0	0	1	0	0	0	0
			Albimonas	0	1	0	0	0	0	0	0	0
			Alrensia	0	0	0	0	0	2	1	0	0
			Roseovarius	0	1	5	1	0	1	0	0	0
	Gammaproteobacteria	unclassified	Sedimenticola	0	0	0	1	0	0	0	0	0
			unclassified Ectothiorhodospiraceae	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		Chromatiales	Kangiella	1	0	0	0	0	0	0	1	0
		Oceanospirillales	Neptunomonas	0	0	0	0	0	1	0	0	0
			Neptuniibacter	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		Enterobacteriales	unclassified Enterobacteriaceae	1	0	0	0	0	1	0	0	0
			Escherichia/Shigella	0	0	5	0	5	2	0	1	1
			Rahnella	0	0	0	1	1	0	1	1	3
			Yersinia	0	0	0	0	0	0	0	0	1
			Serratia	0	0	0	0	1	1	0	2	1
		Vibrionales	Vibrio	1	0	0	0	0	0	0	0	0
			Listonella	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		Alteromonadales	Colwellia	0	0	1	0	0	0	0	0	0
			Teredinibacter	2	2	3	0	0	0	0	0	0
			Saccharophagus	0	0	0	0	1	0	0	0	0
			Haliea	0	0	0	0	0	1	0	0	0
			Glaciecola	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		Thiotrichales	Francisella	0	0	0	0	0	0	2	0	0
			Fangia	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Gemmatimonadetes	Gemmatimonadetes	Gemmatimonadales	Gemmatimonas	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Acidobacteria	Acidobacteria Gp10		Gp10	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Deinococcus-Thermus	Deinococci	Deinococcales	Truepera	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	unclassified Verrucomicrobiaceae	0	0	1	0	0	0	1	0	1
			Luteolibacter	0	0	0	0	0	0	1	0	1
			Persicirhabdus	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Planctomycetes	Planctomycetacia	Planctomycetales	unclassified Planctomycetaceae	2	6	6	6	0	0	6	0	1
			Schlesneria	1	0	0	1	1	0	0	0	0
			Planctomyces	8	3	3	21	3	10	19	8	8
			Rhodopirellula	4	0	0	9	2	0	5	3	3
			Blastopirellula	3	2	3	4	0	1	6	3	2
			Pirellula	1	0	0	0	0	0	0	1	2
Cyanobacteria	Cyanobacteria		Gp11a	0	3	1	0	0	0	0	0	0
			Chlorophyta	1	1	0	1	0	0	0	0	0
			Bacillariophyta	0	1	0	2	1	0	1	2	0
Lentisphaerae	Lentisphaeria	unclassified		0	0	1	0	0	0	0	0	0
Chloroflexi	Anaerolineae	Anaerolineales	unclassified Anaerolineaceae	1	0	0	0	0	0	0	0	0
			Longilinea	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Caldilineae	Caldilineales	Caldilinea	0	0	0	1	0	1	0	0	1
Total				59	51	51	61	43	44	66	46	53

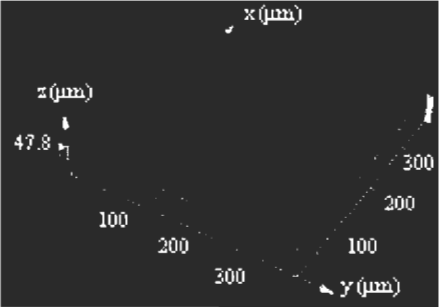
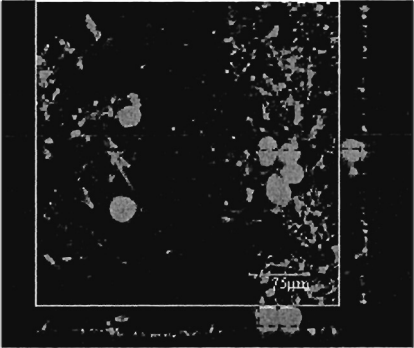
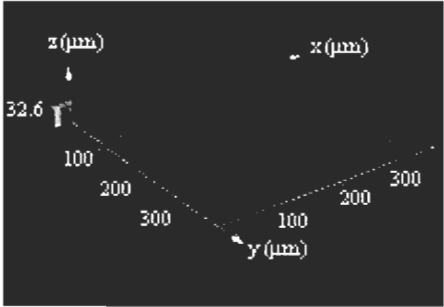
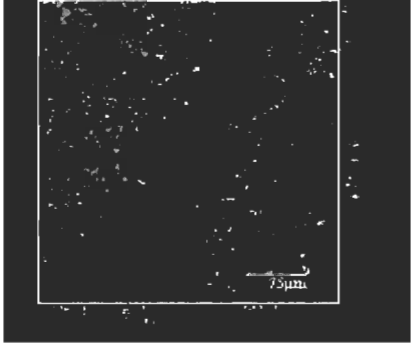
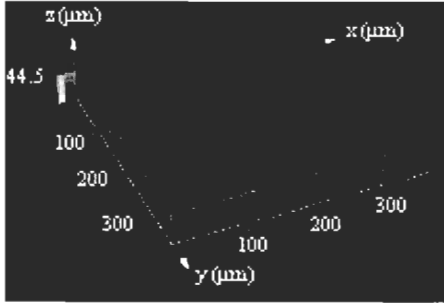
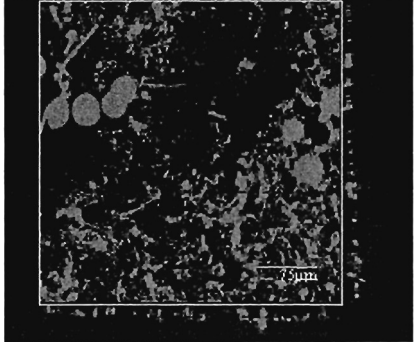
APPENDIX 2

Eukaryote composition of the biofilm identified at each age through 18S rRNA sequences analysis. Values are number of sequences (a, b, c = replicates).

Group	Sub-Group	Class/Order	Genus	T1			T2			T3		
				a	b	c	a	b	c	a	b	c
Alveolata	Ciliophora	Intramacronucleata	Zoothamnium	55	51	73	54	30	59	35	24	37
			Pseudovorticella	3	0	2	0	2	0	0	0	0
			Intramacronucleata	1	1	5	4	2	1	7	6	0
	Dinophyceae	Postciliodesmatophora	unclassified	2	0	0	2	2	0	3	0	1
		Suessiales	Pelagodinium	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		Gymnodiniales	unclassified	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Unclassified	Unclassified		1	1	0	3	0	3	10	3	1
Viridiplantae	Chlorophyta	Trebouxiophyceae	Nannochloris	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		Unclassified		1	0	0	0	0	0	0	0	0
Rhizaria	Cercozoa	Unclassified		0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Unclassified			0	0	0	0	0	0	3	0	0
Metazoa	Rotifera		Encentrum	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Cnidaria	Scyphozoa	Haliclystus	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Arthropoda	Crustacea	Tisbe	3	0	1	1	0	0	0	1	0
			Harpacticus	0	0	0	0	1	2	3	7	2
			Unclassified	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Unclassified			0	0	0	0	4	2	0	1	0
				0	0	1	0	0	0	1	0	0
Total				67	53	82	67	41	66	64	42	42

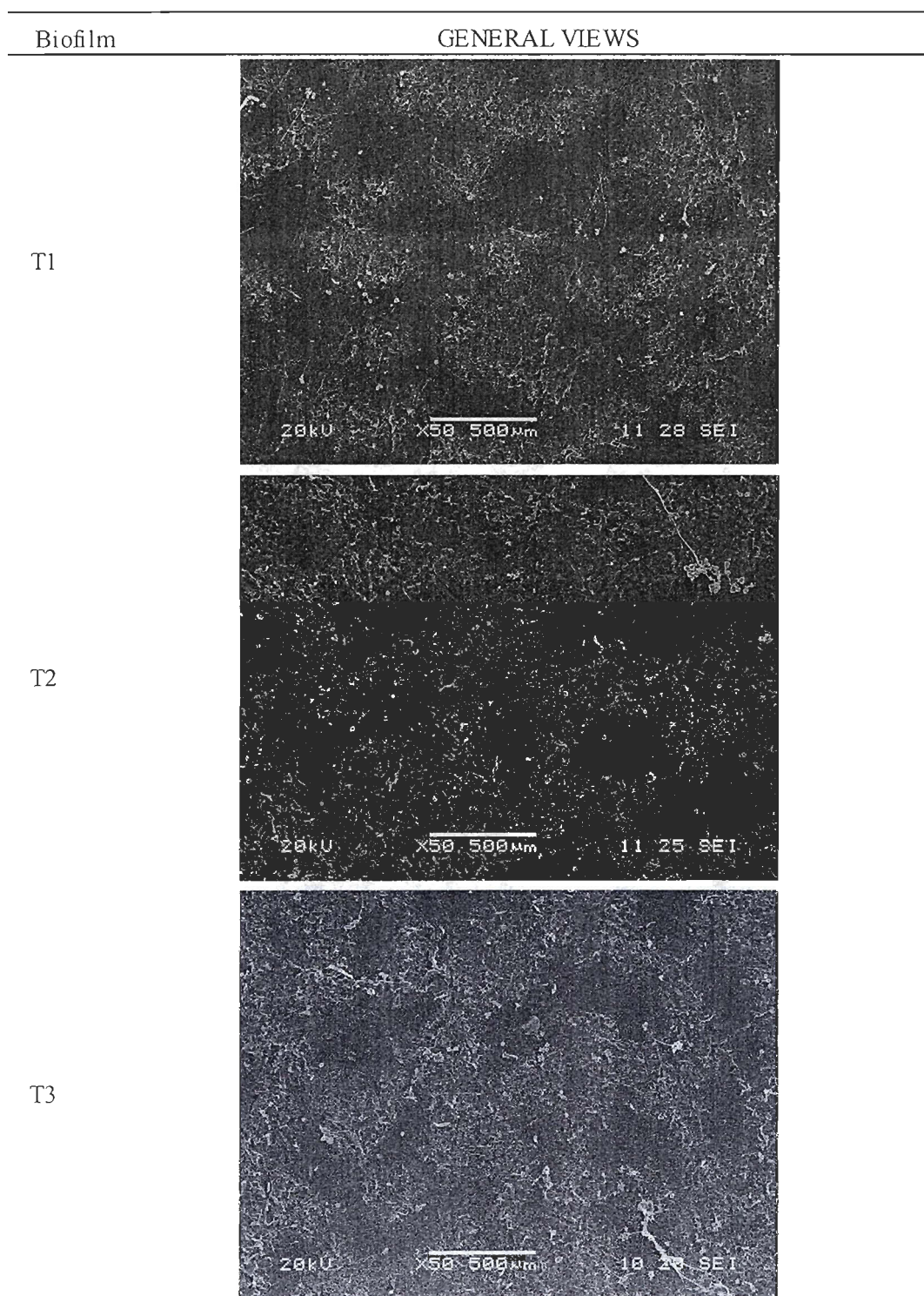
APPENDIX 3

CLSM pictures of biofilm surface.

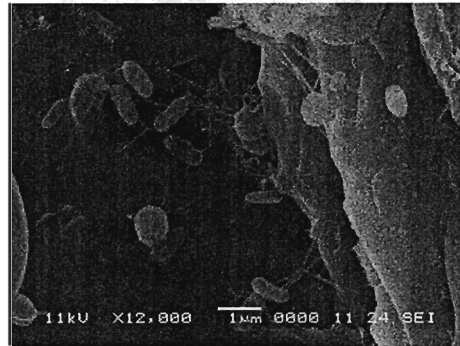
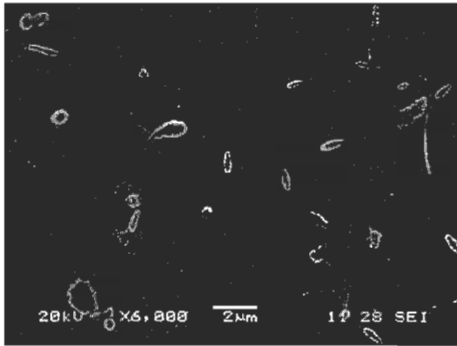
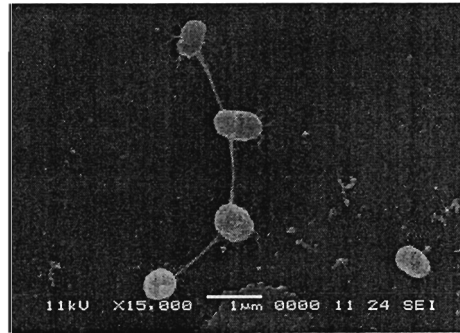
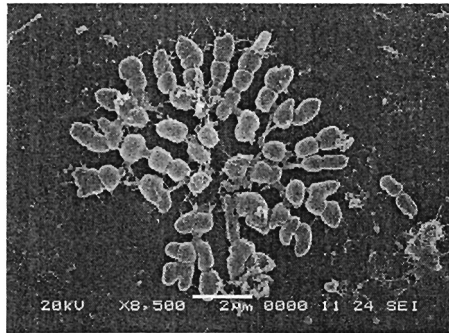
Biofilm	3D imaging	Slides
T1		
T2		
T3		

APPENDIX 4

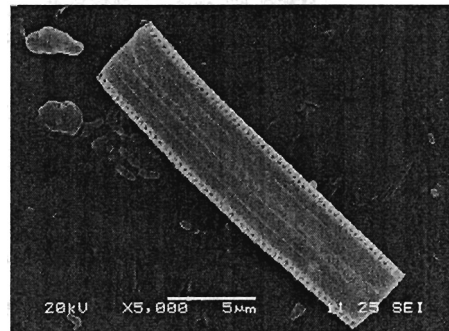
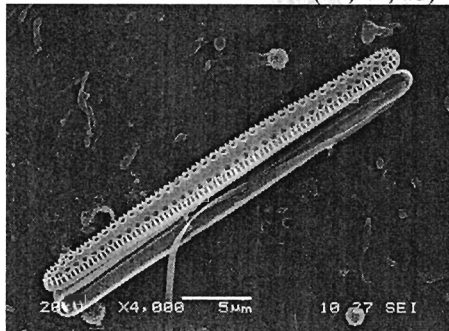
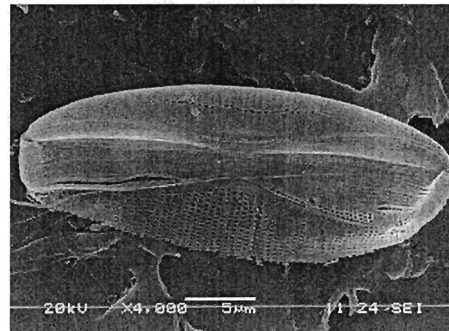
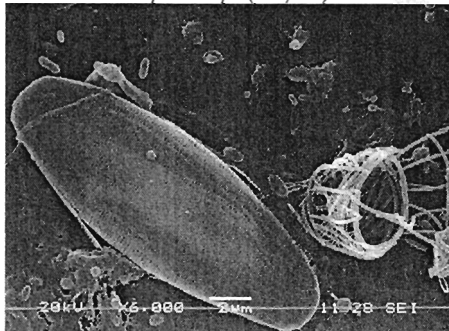
SEM pictures of biofilm surface.

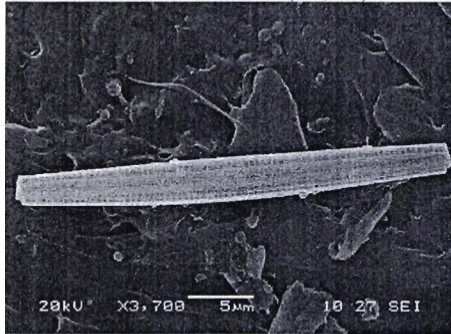
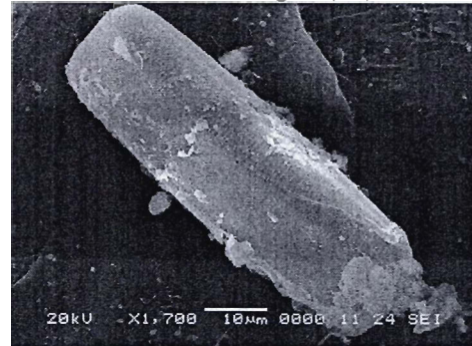
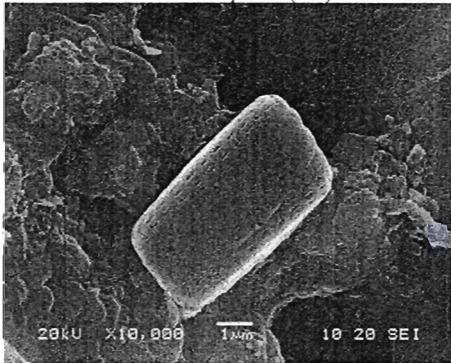
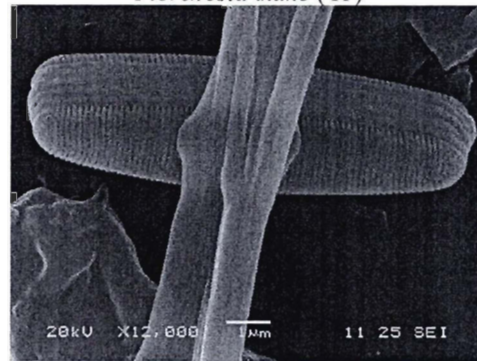
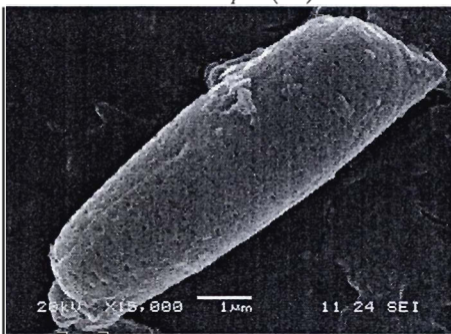
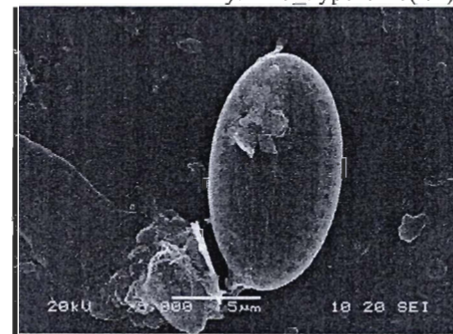
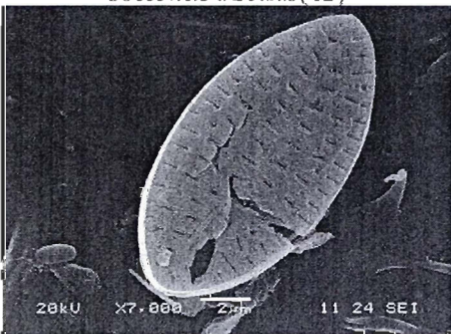
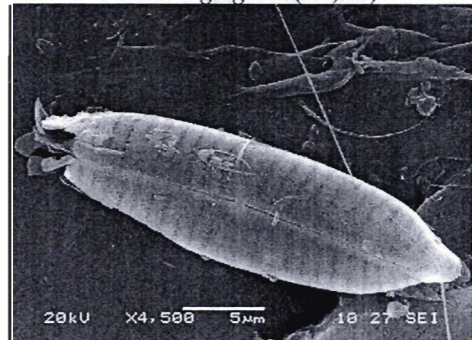


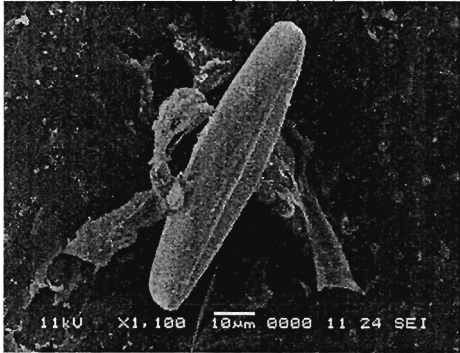
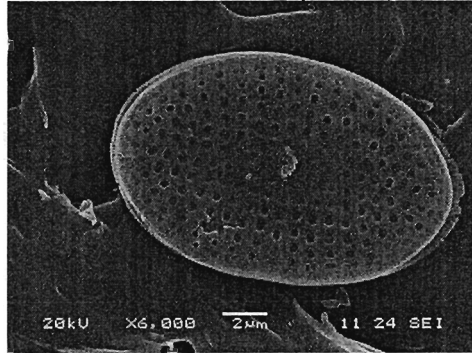
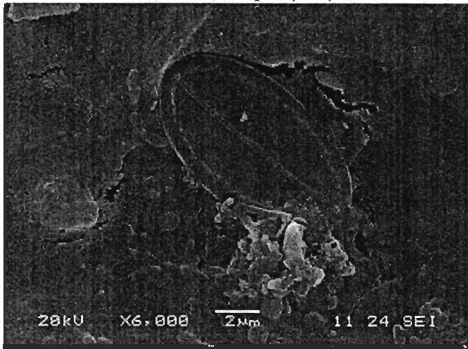
BACTERIA



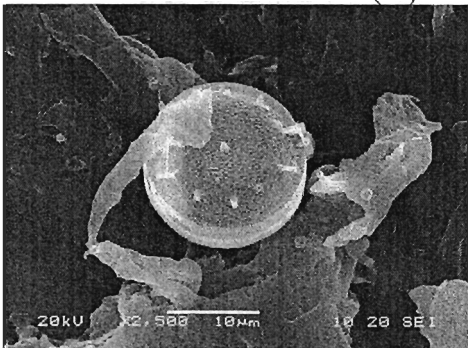
PENNATE DIATOMS

Thalassionema nitzschioides (T1, T2, T3)*Amphoraspa.* (T1, T2)

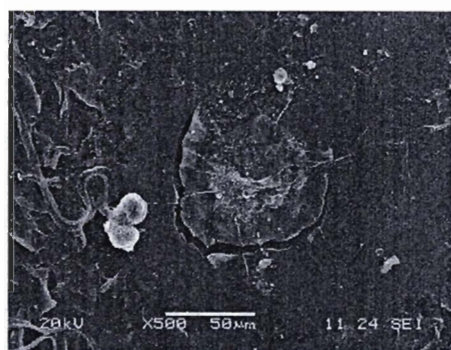
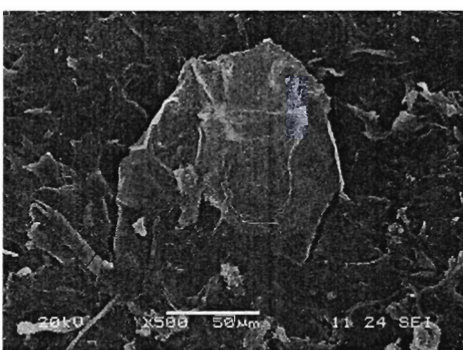
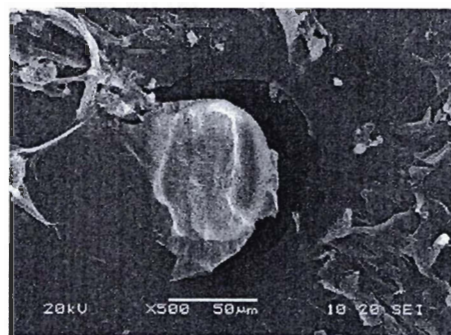
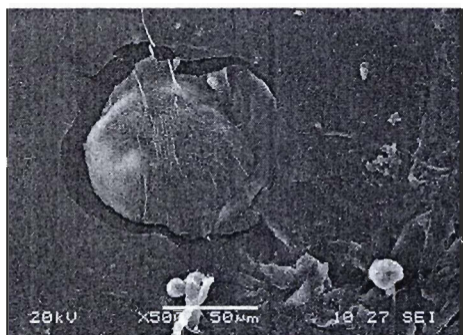
Tabularia tabulata (T1, T2)*Parlibellus delognei* (T1)*Navicula* sp.1 ? (T1)*Pteroncola inane* (T1)*Lunella* sp.? (T2)*Cocconeis stauroneiformis* hypovalve (T2)*Cocconeis disculus* (T2)*Navicula gregaria* (T2, T3)

Navicula sp.2 ? (T3)*Cocconeis scutellum* epivalve (T3)*Cocconeis* sp. (T3)

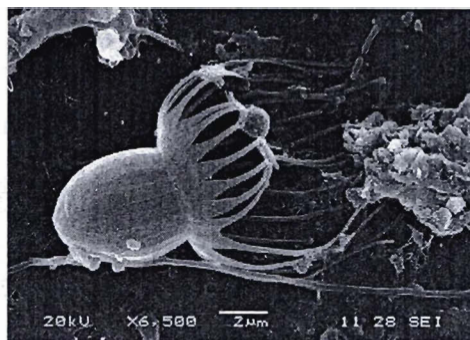
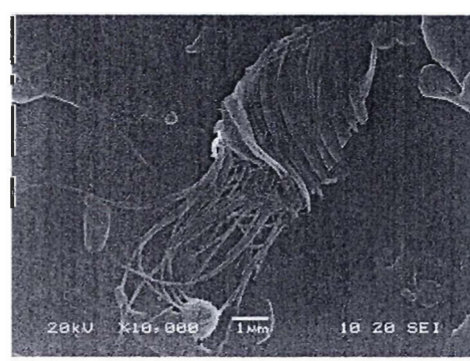
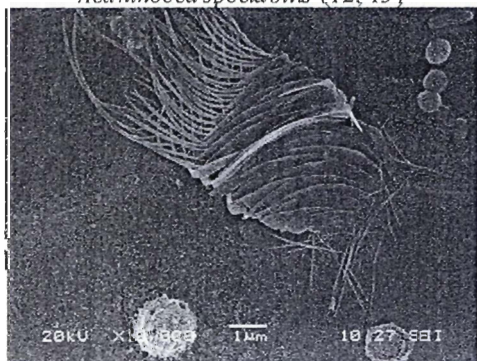
CENTRIC DIATOMS

Thalassiosira nordenskiöldii (T2)

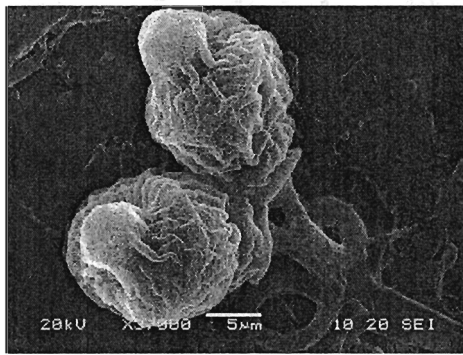
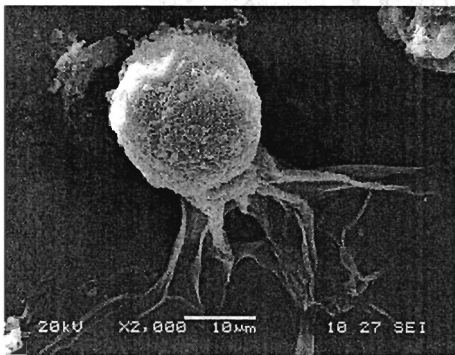
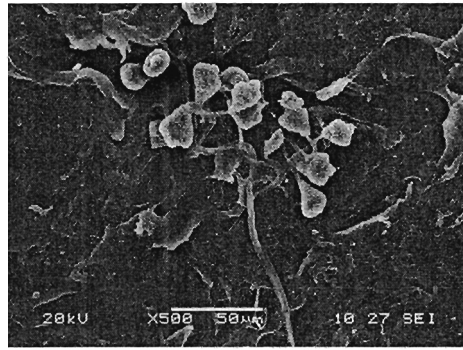
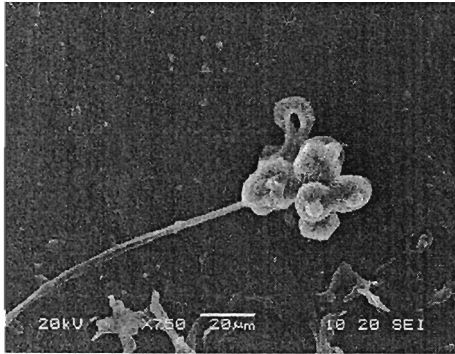
DINOF LAGELLATES ? (T2, T3)



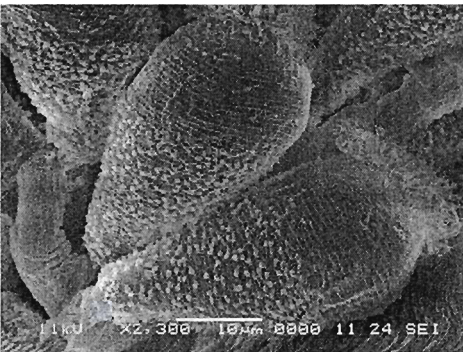
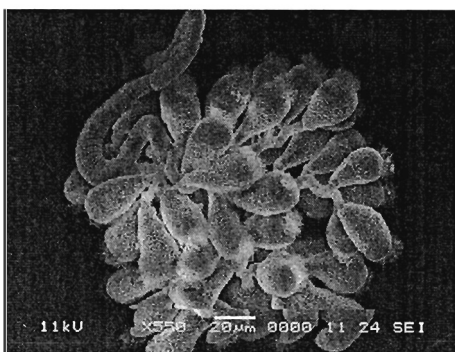
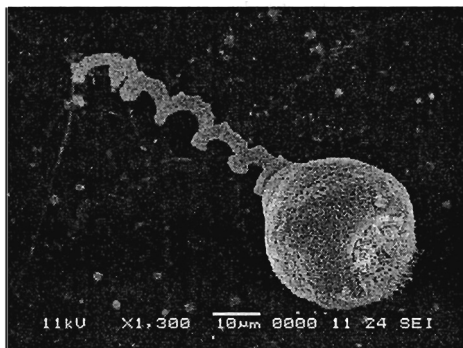
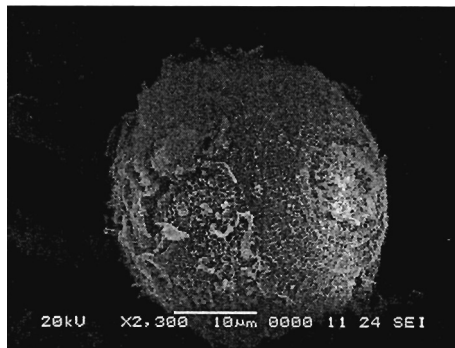
CHOANOF LAGELLATES)

Volkanus costatus (T1, T2, T3)

Acanthoea spectabilis (T2, T3)


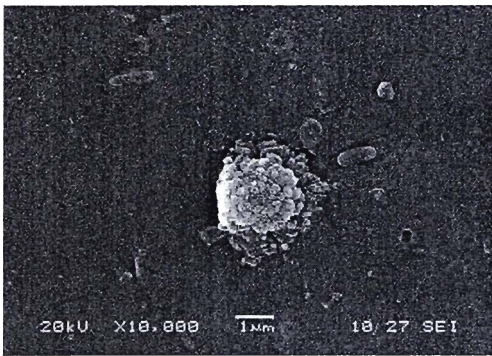
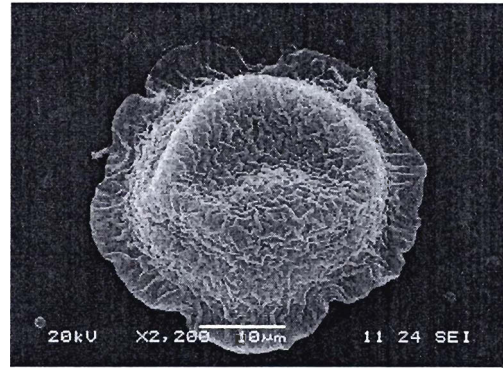
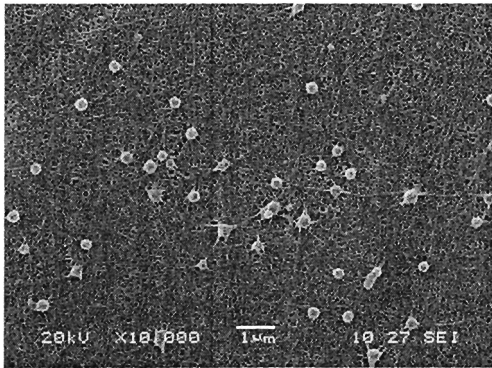
 CILIATES (T1, T2, T3)



 CNIDARIA (T1)



UNKNOWN



CHAPITRE 3

VARIATIONS SPATIO-TEMPORELLES DE LA FIXATION ET CONDITIONS PHYSIOLOGIQUES DES POST-LARVES DE MOULE

Ce troisième article, intitulé « *Spatio-temporal variations in settlement and physiological conditions of blue mussel post-larvae* », fut corédigé par moi-même, les professeurs Bruno Myrand, Frédéric Olivier, et Réjean Tremblay, ainsi que mes collègues François Bourque et Lisandre Gilmore-Solomon. La version présentée ici sera soumise au journal *Marine Ecology Progress Series* au début de l'année 2012. En tant que premier auteur, ma contribution à ce travail fut l'essentiel de la recherche sur la dynamique du recrutement et l'évaluation de la qualité lipidique chez les invertébrés marins, l'élaboration du plan d'échantillonnage, la réalisation des campagnes de terrain, les analyses en laboratoire, le traitement statistique des résultats et la rédaction de l'article. Les professeurs B. Myrand, F. Olivier et R. Tremblay ont fourni l'idée originale et ont aidé à la définition de la problématique, à l'élaboration du plan d'échantillonnage ainsi qu'à la révision de l'article. Mademoiselle L. Gilmore-Solomon et monsieur F. Bourque ont contribué à l'échantillonnage sur le terrain et à l'acquisition des données en laboratoire. Les résultats présentés dans cet article ont été présentés au *Forum québécois en sciences de la mer* à Rimouski (Canada) en novembre 2009.

3.1 RÉSUMÉ

Nos précédents travaux suggèrent l'importance d'un déclencheur trophique de la fixation (« *trophic settlement trigger* », TST) principalement associé au picophytoplancton, pour les larves de moule bleue, *Mytilus edulis* (L 1758). La présente étude traite particulièrement de i) la variabilité spatiale à petite échelle des abondances de larves et recrues, ii) l'influence du comportement de la moule dans le découplage benthopélagique et iii) l'avantage physiologique potentiel qu'offre aux post-larves la floraison phytoplanctonique lors du TST. Pour cela, nous avons suivi, à grande fréquence d'échantillonnage au cours d'une saison de reproduction, la concentration larvaire, le taux de fixation et le recrutement dans trois stations distantes de moins d'un kilomètre. Dans une des stations, nous avons évalué selon le même pas d'échantillonnage, la condition physiologique des post-larves (classes de lipides et acides gras) ainsi que la qualité de la ressource trophique (acides gras). Globalement, une importante variabilité spatiale fut observée dans la concentration de jeunes moules pélagiques et benthiques, et nous suggérons que les variations significatives affectant le pelagos dépendent du comportement des individus qui varie à diverses échelles spatiales au cours de l'ontogénie. Un couplage benthopélagique a été démontré entre la concentration de larves compétentes (pédiveligères) dans l'eau et leur taux de fixation. *A contrario*, un découplage important fut constaté entre l'abondance de larves compétentes dans l'eau et le taux de fixation des individus métamorphosés (post-larves) et la réponse comportementale des larves semble être à l'origine d'un tel phénomène. Enfin, aucun avantage physiologique particulier ne fut observé chez les post-larves au cours du TST, suggérant le rôle principal du chimiotactisme dans le déclenchement de la fixation.

3.2 SPATIO-TEMPORAL VARIATIONS IN SETTLEMENT AND PHYSIOLOGICAL CONDITIONS OF BLUE MUSSEL POST-LARVAE

Authors:

Nicolas Toupoint¹, Lisandre Gilmore-Solomon¹, François Bourque², Bruno Myrand², Frédéric Olivier^{1,3}, Réjean Tremblay¹.

Institutions:

¹ Institut des Sciences de la Mer (ISMER) - Université du Québec à Rimouski (UQAR); 310, Allée des Ursulines, CP 3300, Rimouski (Québec), Canada, G5L 3A1.

² Merinov, Centre d'innovation de l'aquaculture et des pêches du Québec, Direction de la production de biomasse, 107-125 chemin du Parc, Cap-aux-Meules (Québec), Canada G4T 1B3.

³ Muséum National d'Histoire Naturelle, Département Milieux et Peuplements Aquatiques, UMR 7208 BOREA CNRS/P6/IRD/MNH

ABSTRACT

Our previous works suggested the importance of trophic settlement trigger (TST), mainly associated to the picoplankton, for larvae of *Mytilus edulis*. The present study focuses mainly on i) the fine-scale spatial variability of larval and settlers abundances, ii) the influence of mussel behavior in the benthic-pelagic decoupling, and iii) the potential physiological advantage of phytoplanktonic bloom for post-larvae during the TST period. High frequency sampling of larval concentration, settlement rate, and recruitment was conducted in three stations separated by < 1 km, during a reproductive season. At the same frequency in one station, we monitored the post-larval physiological conditions (lipid classes and fatty acids) and the trophic resources quality (fatty acids). Globally, an important spatial variability affected both pelagic and benthic mussel concentrations, and we suggested that significant variability in the pelagos is related to behavior at various spatial scales. A benthic-pelagic coupling was demonstrated between larval availability and pediveliger settlement rate, whereas an important decoupling occurred between non-metamorphosed and metamorphosed individuals, which could be explained by particular behavioral responses. Finally, TST provides no physiological advantage for post-larvae, suggesting a primary role as a chemotactic cue to synchronize settlement.

Keywords

Mytilus edulis, settlement, trophic settlement trigger, spatial variability, lipid classes, fatty acids, metamorphosis delay, byssal-drifting

INTRODUCTION

The recruitment success directly influences benthic population structures and it is the results of complex and multiple inter-related processes (Pineda et al. 2009). Among them, the settlement and subsequent metamorphosis of larvae in post-larvae are pivotal stages between pelagic and benthic phases, regulating both dynamic and structure of marine populations (Hunt & Scheibling 1998). The larval supply is the main constraining variable for settlement. Pools of larvae are highly patchy in the environment (McQuaid & Phillips 2000) and the spatial scale of dispersion may strongly influence the settlement pattern. A benthopelagic decoupling is usually described in the settlement of bottom dwelling marine invertebrates (Miron et al. 1995, Porri et al. 2006a). Globally, behavior is the main source of these decoupling since it could limit broad generalizations on the settlement regulation by larval supply (Bishop et al. 2006a, Pineda et al. 2010).

Behavior is influenced by larval physiological condition (quality), which depends on the energy acquired from food (Tremblay et al. 2007) to meet metabolic needs that are influenced by temperature (Rayssac et al. 2010). The energetic costs of the metamorphosis are provided by biochemical reserves accumulated during the larval phase (Videla et al. 1998). Mainly composed by triacylglycerols (TAG) (Holland 1978, Gallagher et al. 1986, Delaunay et al. 1992), the larval energy reserves also influence juvenile performances (Phillips 2002, 2004). In addition, planktonic food provides structural components, like polyunsaturated fatty acids (PUFA) considered as essential for growth, development and survival of marine animals (Glencross 2009).

The blue mussel, *Mytilus edulis* (L. 1758), has a complex life-history with a planktonic larval phase during which any extrinsic or intrinsic factors affecting development could modify time spent in the pelagos (Thorson 1950, Widdows 1991). Furthermore, if optimal conditions are not found, the mussel larva can delay its metamorphosis to prospect for suitable habitats (Bayne 1965). In addition, young post-larva may return to the pelagos using byssal-drifting (Sigurdsson 1976, Lane et al. 1985) and

search for another suitable substrate for the adult life according to the primary-secondary settlement theory (Bayne 1964a, Erlandsson et al. 2008). In fact, several events of attachment/detachment could occur during this peri-metamorphic stage as the settlement behaviour can be modulated by hydrodynamism (Pernet et al. 2003a), substrate morphology (Eyster & Pechenik 1987), biofilm composition (Toupoint et al. Chapter 2), inter- and intra-specific relations (Petersen 1984, Porri et al. 2008a), and physiological conditions (Tremblay et al. 2007, Rayssac et al. 2010).

In a previous study (Chapter 1) conducted during two successive years (2007 and 2008), we observed important fine-scale spatial variations in mussel larval concentrations and settlement rates, and a strong decoupling between larvae and settlers abundances. We suggested that this phenomenon could be related to a delay of metamorphosis. Furthermore, we observed both years that mussel settlement was synchronized with a phytoplankton bloom, which suggested a trophic settlement trigger (TST) associated to trophic resources of high nutritive value, rich in EFA (Toupoint et al. Submitted). In 2008, it was a bloom of picoeukaryotes that synchronized the mussel settlement peak. In complement to this previous work, the present study was done in 2008, at the same site in order to: i) determine the importance of small spatio-temporal scale (<1 000 m and <4 days) variability for different *Mytilus edulis* developmental stages; ii) quantify the importance of behavior on the relationship between larval supply and settlement, and iii) test the impact of TST on physiological parameters of settled post-larvae during the reproductive and recruitment season. Tested hypothesis are:

- (H1) there is a high variability in larvae and settlers abundances at a fine spatial scale;
- (H2) the decoupling between larvae and settlers abundances is caused by a metamorphosis delay and by byssal-drifting processes;
- (H3) the TST increases post-larval physiological conditions and the recruitment success.

METHODS

Sampling design

The study was carried out in a coastal lagoon (Bassin du Havre-Aubert, BHA) of the Îles de la Madeleine (Gulf of St. Lawrence, Canada). BHA is a restricted lagoon of 3 km² (mean depth 2–3 m) connected to the open sea by a narrow channel in the south (Fig. 22). This area is submitted to a microtidal regime with a strong diurnal inequality (mean tidal range ~ 0.3 m) while wind influence is strong throughout the year. Local wild mussel populations (Fig. 22) probably rely on auto-recruitment since there are no known populations outside BHA. Sampling strategy was restricted to sites used for commercial spat collection in order to study the fine scale spatial variability. Larval abundances and settlement rates were monitored twice a week, at three stations (3 replicates per station), during the mussel reproductive period (from May to August of 2008; Fig. 22). Data are expressed relative to T_x , where x is the number of days following the first occurrence of mussel larvae in the water column (T_0), which was 19 May 2008. The maximal distance between stations or replicates was 1 km (from station I to III) and 90 m, respectively. Temperature and salinity were recorded at 0.5–1 m below the surface at each sampling stations using a manual YSI 30/25 FT sensor (YSI Inc., Yellow Springs, Ohio, USA).

Larval concentration

Seawater (1 000 L) was sampled at 0.5–2 m below the surface, immediately sieved (between 80 and 390 μ m square meshes), and the retained material was kept on ice in 80- μ m filtered seawater until larval identification (within 6 hours). Larval abundance (individuals per liter) was determined according to the Aucoin et al. (2004) procedure at a magnification of 100X (upright Olympus BX41, Olympus America Inc., Center Valley, PA, USA). Pelagic young mussels were separated into three groups: i) veligers (from trochophores to umbo-larvae), ii) pediveligers characterized by a visible eyespot, and iii) post-larvae identified by the presence of a dissoconch shell. Larval loss was calculated as the ratio of the mussel abundance measured during the first peaks of veligers and

pediveligers, respectively. Pediveligers data was staggered according to the time delay observed between the two former events in order to test the correlation between time-series of both larval stage concentrations. Pediveligers are competent larvae for primary settlement and metamorphosis, whereas post-larvae are metamorphosed individuals that could resuspend in the water column *via* byssal-drifting (Sigurdsson 1976) before a secondary settlement (Bayne 1964a). Mean larval size was determined by measuring 30 randomly selected individuals with an image analyzer system (CoolSnap Procolor and Image-Pro Plus v.5.0, Media Cybernetics Inc., Silver Spring, MD, USA).

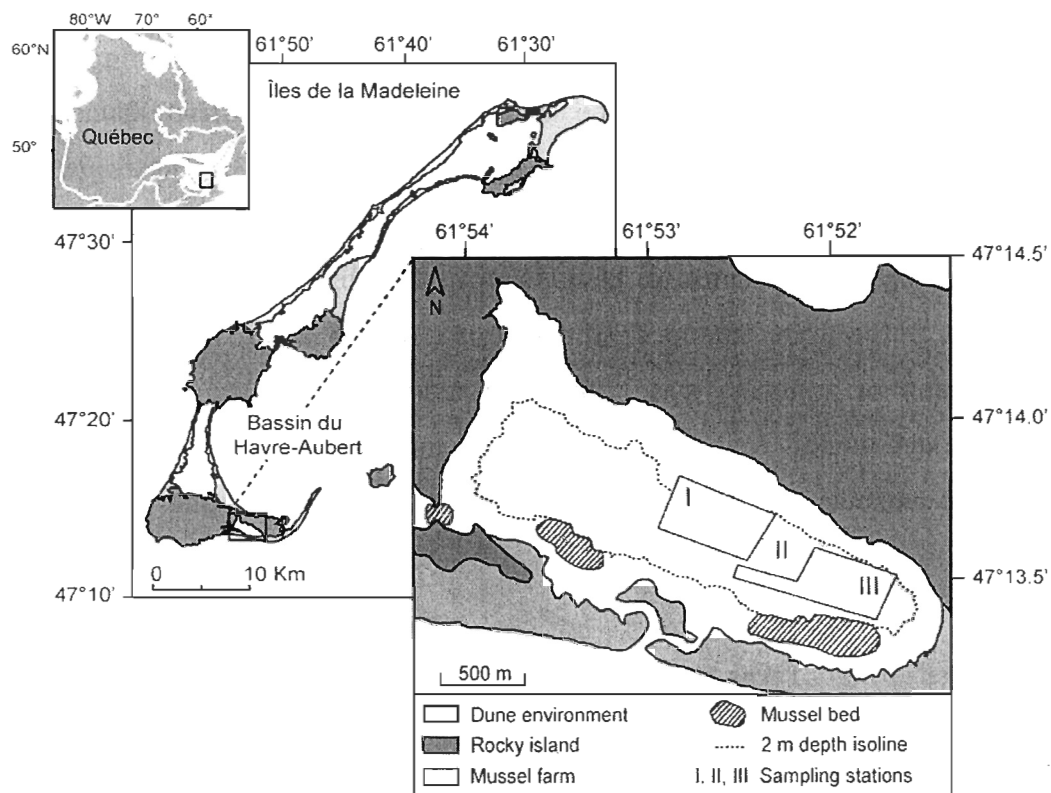


Figure 22: Study sites and sampling design.

Settlement-recruitment

We studied settlement (the process by which individuals become associated with the substrate) and recruitment (the number of individuals at time t of the benthic life) (Caley et al. 1996) on collector ropes (polypropylene; 1.27 cm in diameter and 1.33 m in length)

suspended from a long-line typically used for mussel culture. Settlement rate (individuals per meter per day) was evaluated by sampling collector ropes (immersed for 3–4 days), that were immediately replaced by new ones at each sampling date. Settlers were detached from the collector ropes using a water-jet and kept in 80 μm pre-filtered sea water. Abundances were determined at a magnification of 10X (Leica stereomicroscope MZ7.5, Leica Microsystems Ltd., Heerbrugg, Switzerland) by separating settled young mussels into two groups: i) non-metamorphosed pediveligers and ii) post-larvae. Settlement rate was expressed as mussel abundance per day of rope immersion. Recruitment (individuals per meter) was studied by suspending a batch of 65 collector ropes in 3 June and then randomly sampling 5 collectors weekly until the 30 September 2008. Post-larvae were treated and counted as described previously.

Lipid classes and fatty acids concentrations were determined for newly settled post-larvae in station III ($n = 3$ replicates; Fig. 22). Individuals were manually sorted in 80 μm pre-filtered sea water at a magnification of 10X (Leica stereomicroscope MZ7.5, Leica Microsystems Ltd., Heerbrugg, Switzerland) and mean size was assessed on 30 individuals using a picture analyser (CoolSnap Procolor and Image-Pro Plus v.5.0, Media Cybernetics Inc., Silver Spring, USA). Three size classes were defined for settled post-larvae: i) $< 300 \mu\text{m}$ considered as post-larvae with no metamorphosis delay (competency is acquired around 260 μm ; McGrath et al. 1988), ii) 300–400 μm considered as post-larvae with delayed metamorphosis (late pediveligers could measure as large as 415 μm ; Bayne 1965), and iii) $> 400 \mu\text{m}$ considered as post-larvae with secondary settlement(s) (Bayne 1964a). Batches of 60 to 400 individuals were weighted and immediately stored under nitrogen in pre-cleaned amber glass vials with Teflon liner caps containing 3 ml dichloromethane-methanol (DCM-MeOH 2:1, v/v) and 3,5-Di-ter-butyl-4-hydroxytoluène (BHT; 0.1 %, w/v; antioxidant; Kraffe et al. 2002) at -80°C until later analysis. Masses of total lipids (TL), total fatty acids (TFA) were expressed in nanograms per microgram of mussel. Compositions of lipid classes and FA were expressed as the relative proportion of TL and TFA, respectively.

Trophic resources

Particulate organic matter (POM) and fatty acid concentrations in seston were determined at station II as for post-larvae ($n=2$ replicates; Fig. 22) with 2 L seawater samples taken 0.5–1 m from the surface. Sampled water was directly filtered through a square mesh sieve (20 μm) and stored in opaque bottles until filtration on glass-fiber filters (GF/C, Whatman Ltd, Maidstone, UK). POM was quantified according to Aminot and Chaussepied (1983) and lipids samples were stored as described previously for post-larvae. The mass of TFA in the seston was expressed in micrograms per milligram of POM.

Lipids analysis

Mussel lipids were extracted in a DCM–MeOH solution (2:1, v/v) following the Folch et al. (1957) procedure and lipid classes (triacylglycerols: TAG, free sterols: ST and phospholipids: PhL) determined by thin-layer chromatography coupled with flame ionization detection (TLC/FID) on an Iatroscan MK-6 (Shell USA, Fredericksburg, VA, USA) equipped with silica gel-coated Chromarods SIII (Shell-USA Inc., Fredericksburg, VA, USA) (Parrish 1987). Fatty acid profiles were determined on neutral (NL) and polar fractions (PL) separated on chromatographic column using silica gel hydrated (preconditioned with DCM and MeOH). NL and PL fractions were eluted with either DCM–MeOH (1 mL, 98:2, v/v) or MeOH (5 mL), respectively (Marty et al. 1992). Fatty acids methyl esters (FAME) were produced using sulphuric acid–methanol (2:98, v/v) and toluene. Finally, neutral FAME were purified using a chromatographic column on non-hydrated silica gel. FAME of seston samples were extracted directly by transesterification without prior extraction, using sulfuric acid–methanol (2:98, v/v) and toluene–methanol (2:3, v/v) (Lepage & Roy 1984).

FAME were concentrated in hexane (100 μL for mussel NL and PL, and 200 μL for seston) and analyzed in MS/MS scan mode (ionic range: 60–650 m/z) on a Trace GC (gas chromatograph) coupled to a Polaris Q ion trap (Thermo Finnigan, Mississauga, ON, CA) equipped with a Valcobond VB-5 capillary column (VICI Valco Instruments Co. Inc.,

Brookville, ON, CA). Data were treated using Xcalibur v.1.3 software (Thermo Scientific, Mississauga, ON, CA). Fatty acids (FA) were identified by comparing retention times with known standards (Supelco 37 Component FAME Mix and menhaden oil; Supelco Inc., Belfonte, PA, USA).

Data analysis

Mixed-model repeated two-way ANOVAs were performed to examine the spatio-temporal variation of larval concentration and size, settlement rate, recruitment, seston quantity and quality, temperature and salinity. The temporal variation of shell size, mass, and lipid classes in settled post-larvae was analyzed through mixed-model repeated one-way ANOVAs. The temporal variability of the fatty acids content was analyzed between the NL and PL fractions with mixed-model repeated two-way ANOVAs, with lipid fraction as secondary fixed factor. Every test of repeated measures was computed using an autoregressive structure in order to integrate the relative distance between sampling dates. Kenward-Roger correction was applied for the computation of errors freedom degrees when using mixed-model. Finally, mean FA profiles of post-larval lipid fractions and seston were compared through mixed-model one-way ANOVAs. To prevent type 1 error when analyzing fatty acids matrix, tests were first performed on SFA, MUFA, and PUFA groups (saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids, respectively). When significant differences appeared within groups, analyses were performed on the pool of individual FA by using the sequential Bonferroni correction. Data normality was verified by a Shapiro-Wilk test and the variance homoscedasticity through direct observations of residuals. When assumptions were not met, raw data were transformed, and if assumptions were still not met, conclusions were retained if they agreed with a test on ranked data. Pearson's correlations were calculated between variables and a multiple regression model (stepwise selection) was computed for the physiological data of settled post-larvae to explain variations in settlement rate. SAS v.9.2 software (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) was used for analyses.

RESULTS

Larvae

Significant date x station interactions were observed for pelagic larvae (veliger and pediveliger; Table 11). The veliger concentration was characterized by one peak of abundance in station I and II at T24 and two peaks in station III at T28 and T38, with a maximum of 74 ± 6 ind L^{-1} at T24 in station II (Fig. 23a). Pediveliger larvae were observed for the first time at T31 in every stations and their concentration was characterized by two peaks of abundance. The first one occurred at T35 in every station, without significant spatial variation (mean value of 5.4 ± 2 ind L^{-1}), and the timing of the second one differed among stations with peaks at T66, T63, and T52 in Station I, II, and III, respectively (Fig. 23b). No significant spatial variation occurred in the losses between veliger and pediveliger stages ($F_{(2,6)} = 1.39$, $p = 0.32$), which exhibited a mean value of 80 ± 6 %. Veliger and pediveliger time-series were weakly correlated in station I ($Rho = 0.48$, $p = 0.026$), strongly in station II ($Rho = 0.90$, $p < 0.0001$), and moderately in station III ($Rho = 0.72$, $p = 0.0002$). Time lags of cross-correlations are 11 days in station I and II, and 7 days in station III. No significant spatial variation occurred in the mean larval shell length (Table 11), which ranged from 113.3 ± 3.2 to 292 ± 17 μm during the season.

Significant date x station interactions were observed for all the settlement rate parameters (Table 11). Pediveligers settled at a mean seasonal rate of 14.8 ± 1.9 ind $m^{-1} d^{-1}$, accounting for 29.5 ± 2.1 % of newly settled mussels. Three peaks of intensity were observed at T42, T52 and T63 with a maximum rate obtained in station III at T52 (117 ± 13 ind $m^{-1} d^{-1}$, Fig. 23c). Benthic pediveligers were observed for the first time when pediveliger larvae arrived in the water column (T31): representing 100 % of settled mussels at this date, they accounted for more than 50% at T52 and T63 (Fig. 23c-d). The pediveliger settlement rate was moderately correlated with the pediveliger concentration in the water column whatever the station ($Rho = 0.60$, $p < 0.0001$ in stations I; $Rho = 0.47$, $p = 0.0036$ in station II; and $Rho = 0.60$, $p = 0.0001$ in station III).

Table 11: Results of repeated-measures ANOVAs investigating the effect of date and station on mussel larval stage, settlement and recruitment.

Dependent variables	Date			Station			Date x Station		
	df	F	<i>p-value</i>	df	F	<i>p-value</i>	df	F	<i>p-value</i>
<i>Pelagos</i>									
Veliger	23, 123	34.13	<0.0001	2, 45	10.63	0.0002	46, 116	4.33	<0.0001
Pediveliger	14, 68	18.89	<0.0001	2, 6	4.36	0.0679	28, 65	4.91	<0.0001
Post-larvae	12, 60	3.29	0.0012	2, 6	1.87	0.2337	24, 55	1.17	0.3079
% Post-larvae	12, 34	2.20	0.0357	2, 6	0.89	0.4574	21, 30	1.28	0.2618
Shell length	23, 107	37.50	<0.0001	2, 34	0.27	0.7669	45, 101	1.37	0.0974
<i>Benthos</i>									
<i>Settlement</i>									
Pediveliger	15, 74	127.74	<0.0001	2, 6	0.70	0.5320	30, 70	11.21	<0.0001
% Pediveliger	15, 78	69.20	<0.0001	2, 29	1.49	0.2429	30, 74	2.64	0.0004
Post-larvae	16, 23	66.76	<0.0001	2, 11	9.98	0.0038	32, 26	11.33	<0.0001
<i>Recruitment</i>									
	12, 58	29.80	<0.0001	2, 6	0.90	0.4553	24, 56	2.11	0.0114

Bold *p*-values indicate significant effect.

Post-larvae

No significant spatial variation occurred in the concentration and the proportion of pelagic post-larvae (Table 11), which accounted for 12.7 ± 2.7 % of potential settlers (pediveligers + pelagic post-larvae) at the season scale with maximum values reaching 50 % at T70 (Fig. 24a). Pelagic post-larvae were observed for the first time at T38 and their concentration was characterized by one peak of abundance at T63 with 0.21 ± 0.07 ind L^{-1} (Fig. 24b).

Post-larvae were observed on collectors for the first time at T35 with a mean seasonal rate of 30.8 ± 3.2 ind $m^{-1} d^{-1}$ and a maximum level of 162 ± 16 ind $m^{-1} d^{-1}$ at T56 in each station (Fig. 23e). At this date, the proportion of pediveligers in the settled mussels decreased to 15.4 ± 1.8 % (Fig 23d), the post-larval settlement did not differ significantly between stations, and a bloom of picoeukaryotes occurred synchronously in the water column (TST; Toupoint et al. Submitted). The post-larval settlement rate did not correlate with the pediveliger concentration in the water column. It was moderately related with pediveliger settlement rate only in station II and III ($Rho = 0.63$ and 0.40 , $p < 0.0001$ and $= 0.0068$, respectively), and no relationship occurred when data of settled pediveligers were staggered according to one sampling date.

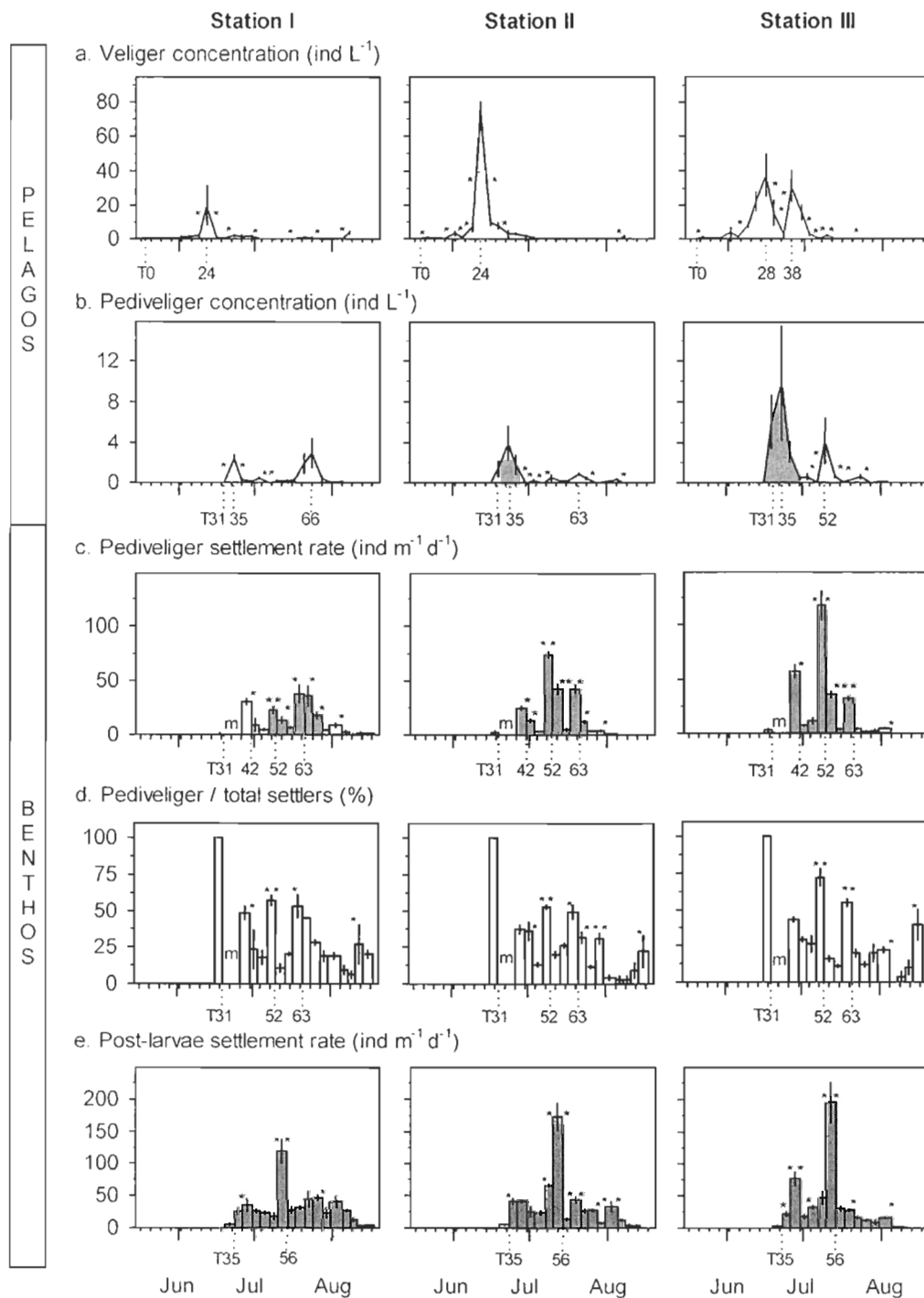


Figure 23: (a) Veligers and (b) pediveligers concentration, (c) settlement rate of pediveligers and (d) their proportion among total settlers, and (e) post-larvae settlement rate in stations I, II and III in BHA, in 2008.

Mean \pm SE ($n=3$). * indicates a significant variation between two successive dates ($p < 0.05$). m = missing data.

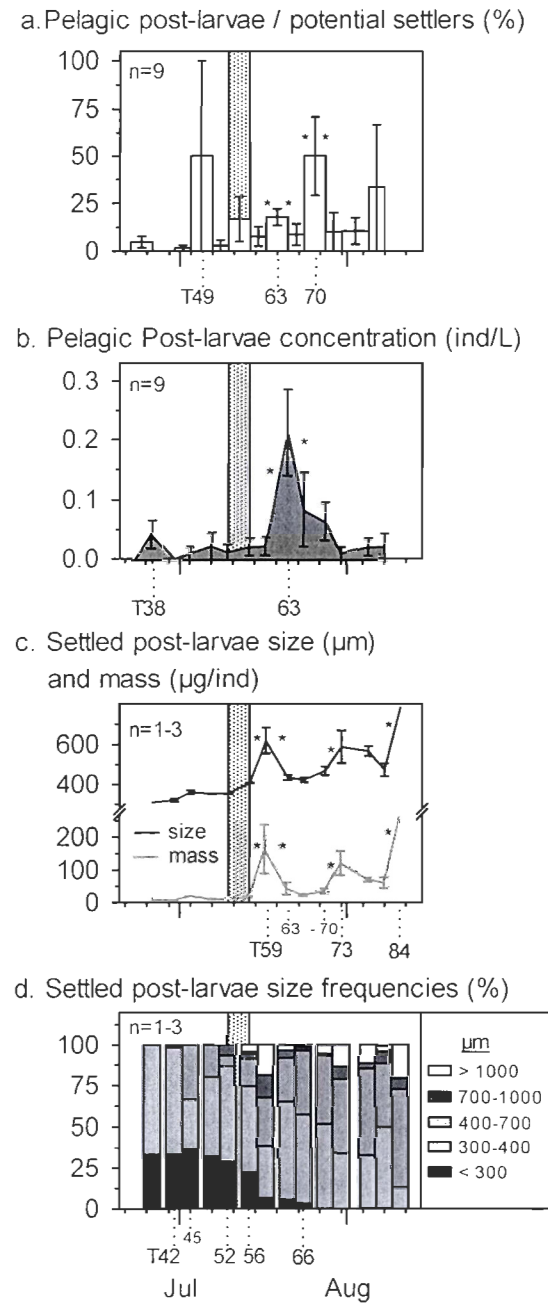


Figure 24: (a) Proportion of pelagic post-larvae among potential settlers, (b) their concentration, (c) the settled post-larval size and mass in station II, and (d) size class frequencies in station II in BHA, in 2008.

Mean \pm SE (n = number of samples; stippled bar = post-larvae settlement peak). * indicates a significant variation between two successive dates ($p < 0.05$).

Post-larval mean shell length and individual mass evaluated in station II (used for lipid analysis) strongly correlated ($Rho = 0.90$, $p < 0.0001$) and showed important temporal variation (Table 12, Fig. 24c). Maximum values were observed at T59, T73 and T84 ($> 585 \mu\text{m}$ and $122 \mu\text{g ind}^{-1}$) and drastic decreases observed between T63 and T70 ($< 470 \mu\text{m}$ and $50 \mu\text{g ind}^{-1}$) were related to maximum concentrations of pelagic post-larvae (Fig. 24c). Shell length of most settled post-larvae was in the range of $300\text{--}400 \mu\text{m}$ (13–67 %). The proportion of small post-larvae ($< 300 \mu\text{m}$) exceeded 22 % up to T59 but then strongly decreased and reached negligible values after T70. Individuals larger than $400 \mu\text{m}$ were first observed following the occurrence of pelagic post-larvae (T42) and were predominant after the settlement peak (34–87 %; Fig. 24d).

A significant date \times station interaction was observed for the recruitment (Table 11). We observed maximum values at T71 in station I and III (mean of $28\,122 \pm 2\,407 \text{ ind m}^{-1}$) and at T78 in station II ($25\,780 \pm 2\,220 \text{ ind m}^{-1}$) followed by a drastic decrease at all stations (Fig. 25). The recruitment significantly correlated with the settlement rate only in station II ($Rho = 0.40$, $p = 0.02$) and there was no correlation with the concentration of pelagic post-larvae in water column.

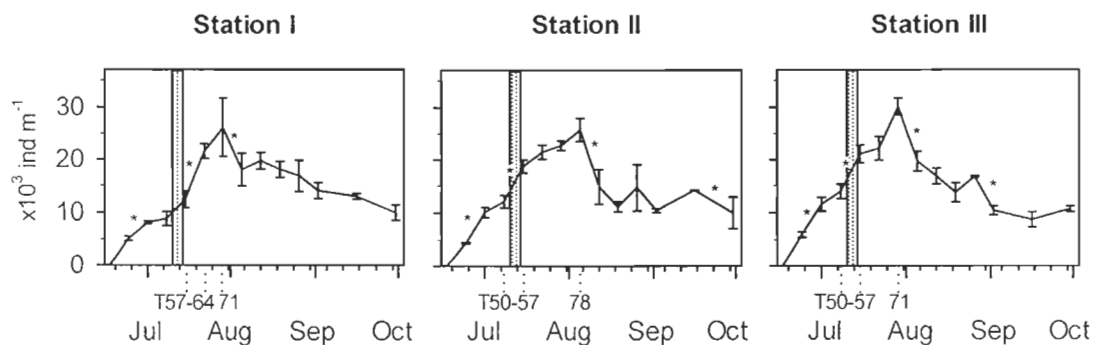


Figure 25: Mussel recruitment in stations I, II and III in BHA, in 2008.

Mean \pm SE ($n = 3$; dotted bar = post-larvae settlement peak). * indicates a significant variation between two successive dates ($p < 0.05$).

Table 12: Results of repeated-measures ANOVAs investigating the effect of date on seston lipid quality as well as the effect of date and lipid fractions on settled post-larvae physiological conditions.

Dependent variables	df	Date		df	Fraction		Date X Fraction		
		F	<i>p-value</i>		F	<i>p-value</i>	df	F	<i>p-value</i>
<i>Seston</i>									
TFA	11, 5	2.10	<i>0.2197</i>						
SFA	11, 5	5.91	0.0261						
MUFA	11, 6	5.64	0.0283						
PUFA	11, 5	17.84	0.0021						
EFA	11, 5	6.69	0.0289						
<i>Settled post-larvae</i>									
Shell length	13, 14	15.20	<0.0001						
Mass	13, 15	9.96	0.0001						
TL	11, 14	1.78	<i>0.1528</i>						
PhL	11, 14	0.86	<i>0.5904</i>						
TAG	11, 13	8.69	0.0001						
ST	11, 11	4.61	0.0074						
TAG/ST	10, 11	5.46	0.0052						
TFA	10, 31	1.93	<i>0.0790</i>	1, 31	0.10	<i>0.4389</i>	10, 31	1.82	<i>0.0989</i>
SFA	10, 31	1.67	<i>0.1335</i>	1, 31	0.33	<i>0.5672</i>	10, 31	1.61	<i>0.1500</i>
16:1	10, 31	3.66	0.0026	1, 31	96.98	<0.0001	10, 31	1.65	<i>0.1461</i>
18:1ω-9	10, 31	2.78	0.0140	1, 31	1.43	<i>0.2415</i>	10, 31	0.19	<i>0.9960</i>
18:1ω-7	10, 31	3.71	0.0024	1, 31	4.68	<i>0.0384</i>	10, 31	0.82	<i>0.6162</i>
20:1	10, 31	1.93	<i>0.0792</i>	1, 31	72.34	<0.0001	10, 31	1.90	<i>0.0830</i>
MUFA	10, 31	3.66	0.0026	1, 31	53.32	<0.0001	10, 31	1.85	<i>0.0926</i>
18:2ω-6	10, 31	1.27	<i>0.2900</i>	1, 31	13.38	0.0009	10, 31	0.48	<i>0.8876</i>
22:2 NMI	10, 31	1.35	<i>0.2482</i>	1, 31	67.92	<0.0001	10, 31	1.97	<i>0.0725</i>
18:3ω-6	10, 31	0.82	<i>0.6121</i>	1, 31	11.18	0.0022	10, 31	0.66	<i>0.7551</i>
18:3ω-3	10, 31	2.75	<i>0.0150</i>	1, 31	43.44	<0.0001	10, 31	0.83	<i>0.6034</i>
20:3ω-6	10, 31	1.36	<i>0.2430</i>	1, 31	365.13	<0.0001	10, 31	1.73	<i>0.1180</i>
18:4ω-3	10, 31	1.77	<i>0.1093</i>	1, 31	151.38	<0.0001	10, 31	1.65	<i>0.1374</i>
20:4ω-6 (AA)	10, 31	1.83	<i>0.0971</i>	1, 31	2.22	<i>0.1465</i>	10, 31	1.63	<i>0.1444</i>
20:5ω-3 (EPA)	10, 31	7.03	<0.0001	1, 31	16.82	0.0003	10, 31	1.75	<i>0.1131</i>
22:5ω-6 (DPA)	10, 31	2.38	<i>0.0317</i>	1, 31	5.95	0.0206	10, 31	1.74	<i>0.1156</i>
22:6ω-3 (DHA)	10, 31	2.11	<i>0.0545</i>	1, 31	33.87	<0.0001	10, 31	1.34	<i>0.2529</i>
PUFA	10, 31	2.61	0.0199	1, 31	6.04	0.0197	10, 31	1.56	<i>0.1667</i>
EFA	10, 31	3.00	0.0092	1, 31	27.56	<0.0001	10, 31	1.49	<i>0.1901</i>

TL = total lipids; PhL = phospholipids; TAG = triacylglycerols; ST = sterols; TFA = total fatty acids; SFA, MUFA, and PUFA = saturated, monounsaturated, and polyunsaturated FA; EFA = essential FA (AA + EPA + DHA); NMI = non-methylene interrupted; AA, EPA, DPA, and DHA = arachidonic, eicosapentanoic, docosapentanoic, and docosahexaenoic acids. Bold *p*-values indicate significant effect (*p* < 0.05).

Trophic conditions

No significant temporal variations were observed for mass of TFA because of large variations among dates. In contrast, percentages of FA groups (SFA, MUFA, PUFA and EFA; Table 12) were characterized by a significant higher level of SFA and lowest rates of PUFA/EFA at T70 (Fig. 26a,b,c). Detailed fatty acids profiles indicate that food for mussels mainly consisted in 16:0, 14:0, 16:1, 20:5 ω -3 (EPA) and 22:6 ω -3 (DHA) as they each represent more than 10% and together, near 65 % of total fatty acids (Table 13). Briefly, seawater temperature and salinity ranged from 8.2 to 23.6 °C and from 29.1 to 30.9 ppm, respectively.

Mussels physiological conditions

Settled post-larvae contained $7.6 \pm 0.8 \text{ ng } \mu\text{g}^{-1}$ of TL on average throughout season and were constituted by $58.5 \pm 2.2 \%$ of PhL (Fig. 26d,e). Both parameters did not significantly vary with time in contrast to TAG and ST (Table 12; Fig. 26e). Levels of TAG and ST showed maximum values over 35 % and 5 % of TL respectively, and minimum values of zero (Figure 26e). TAG was the only lipid class significantly correlated with water temperature ($\text{Rho} = 0.58$, $p = 0.0005$). Post-larval shell length was positively correlated with TAG and ST ($\text{Rho} = 0.68$ and 0.65 , respectively, $p < 0.0001$), and negatively correlated with PhL ($\text{Rho} = -0.39$, $p = 0.0261$). Thus, considering ST as an indicator of shell length (and indirectly of tissues mass), we used the TAG/ST ratio as physiological index. This index showed a seasonal mean of 5.6 ± 1.2 and significant temporal variations with a maximum value of 20.3 ± 2.9 at T70 (Fig 26f). This ratio was positively correlated with SFA ($\text{Rho} = 0.76$, $p = 0.0042$), and negatively with PUFA and EFA in the seston ($\text{Rho} = -0.78$ and -0.64 , $p = 0.0029$ and 0.0248 , respectively).

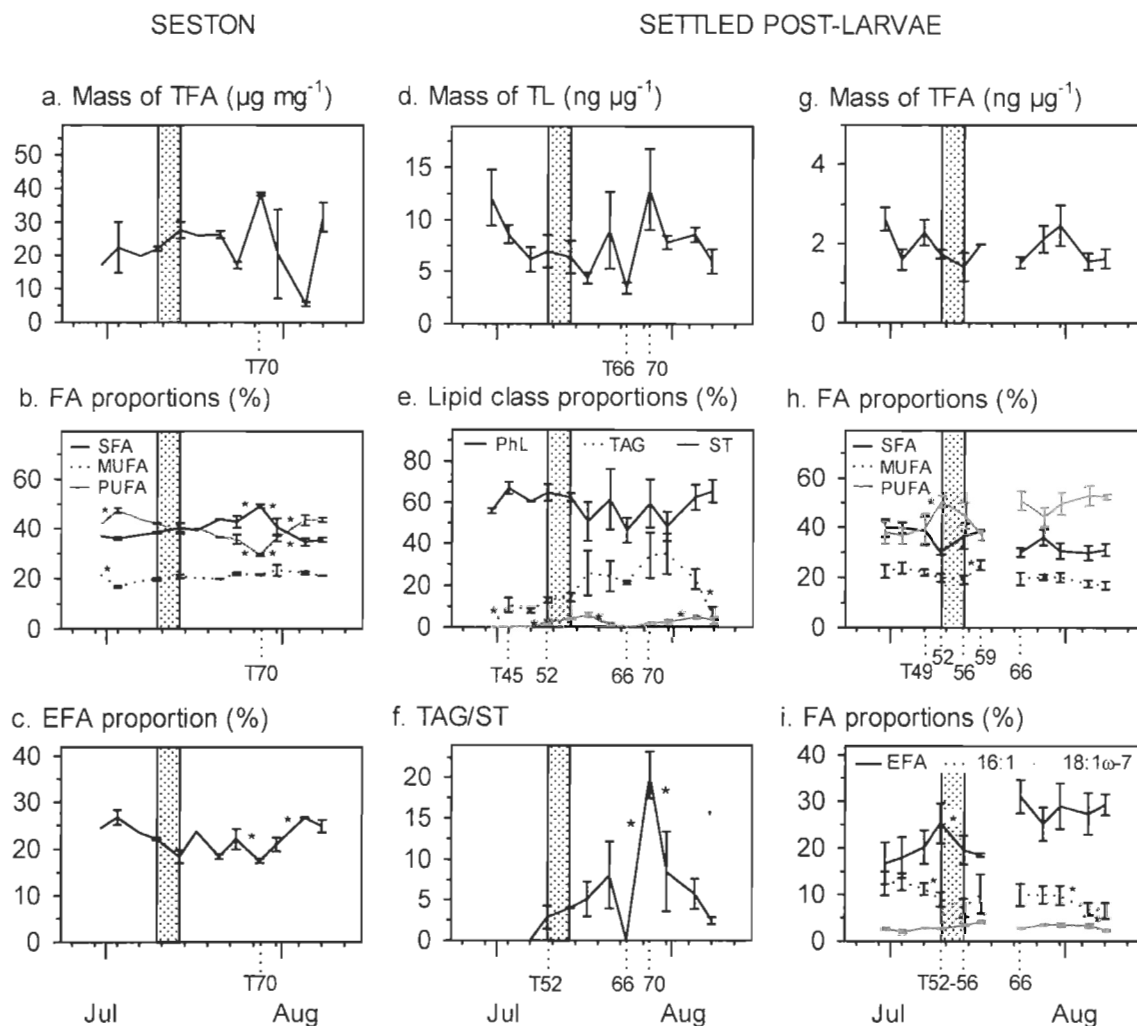


Figure 26: (a-c) Mass and proportion of fatty acids in the seston, and (d-e) mass of total lipids and proportions of lipid classes, (f) TAG/ST ratio, and (g-i) mass and proportions of fatty acids in mussel post-larvae.

TFA = total fatty acids; FA = fatty acids; SFA, MUFA, and PUFA = saturated, monounsaturated, and polyunsaturated FA; EFA = essential FA (AA + EPA + DHA); TL = total lipids; PhL = phospholipids; TAG = triacylglycerols; ST = sterols. Mean \pm SE ($n = 2-3$ for lipid classes, 2-6 for FA; stippled bar = post-larvae settlement peak). * indicates a significant variation between two successive dates ($p < 0.05$).

Table 13: Mean fatty acids profiles (%) in post-larvae and seston, and results of ANOVAs comparing mean FA rates between lipid fractions of post-larvae and seston.

FA	POST-LARVAE		SESTON	1-way ANOVAs					
	PL	NL		df	F	p-value	post-hoc		
14:0	1.67 ± 0.13	4.80 ± 0.37	14.18 ± 0.94	2, 63	300.95	<0.0001	* S	* NL	* PL
16:0	17.01 ± 0.99	17.64 ± 0.95	18.60 ± 0.81	2, 62	1.21	0.305			
18:0	10.74 ± 1.05	8.61 ± 0.82	2.65 ± 0.14	2, 62	131.00	<0.0001	* PL	* NL	* S
Σ SFA	33.10 ± 1.89	34.45 ± 1.11	39.74 ± 0.99	2, 64	5.81	0.0048	* S	NL	PL
16:1	5.52 ± 0.50	12.42 ± 0.65	10.85 ± 0.56	2, 64	46.98	<0.0001	NL	S	* PL
18:1ω-9	3.09 ± 0.36	3.31 ± 0.21	3.41 ± 0.23	2, 62	1.46	0.2391			
18:1ω-7	2.61 ± 0.11	2.98 ± 0.16	4.20 ± 0.19	2, 63	29.52	<0.0001	* S	NL	PL
20:1	4.49 ± 0.27	2.33 ± 0.11	0.40 ± 0.04	2, 63	344.48	<0.0001	* PL	* NL	* S
Σ MUFA	17.19 ± 0.59	22.60 ± 0.66	20.69 ± 0.41	2, 63	23.97	<0.0001	* NL	* S	* PL
18:2ω-6	2.87 ± 0.23	4.21 ± 0.24	3.85 ± 0.16	2, 71	10.23	<0.0001	NL	S	* PL
22:2 NMI	2.05 ± 0.13	0.70 ± 0.09	0.06 ± 0.04	2, 64	103.71	<0.0001	* PL	* NL	* S
18:3ω-6	1.29 ± 0.23	3.28 ± 0.42	1.06 ± 0.22	2, 63	14.96	<0.0001	* NL	PL	S
18:3ω-3	2.83 ± 0.33	6.25 ± 0.43	4.09 ± 0.37	2, 63	28.81	<0.0001	* NL	* S	* PL
20:3ω-6	4.07 ± 0.15	0.99 ± 0.08	0.56 ± 0.08	2, 64	316.80	<0.0001	* PL	NL	S
18:4ω-3	1.48 ± 0.15	4.62 ± 0.23	5.41 ± 0.47	2, 63	58.51	<0.0001	* S	* NL	* PL
20:4ω-6 (AA)	4.38 ± 0.75	3.13 ± 0.59	0.91 ± 0.06	2, 64	8.90	0.0004	PL	NL	* S
20:5ω-3 (EPA)	9.40 ± 0.64	7.07 ± 0.30	10.08 ± 0.32	2, 62	20.69	<0.0001	S	PL	NL
22:5ω-3 (DPA)	2.61 ± 0.42	1.34 ± 0.15	1.44 ± 0.12	2, 63	7.29	0.0014	* PL	S	NL
22:6ω-3 (DHA)	13.85 ± 0.94	8.17 ± 0.44	11.25 ± 0.65	2, 63	22.22	<0.0001	* PL	* S	* NL
Σ PUFA	49.72 ± 2.34	42.95 ± 1.28	39.57 ± 1.11	2, 63	9.63	0.0002	* PL	NL	S
Σ EFA	27.63 ± 1.85	18.38 ± 0.82	22.24 ± 0.75	2, 63	16.60	<0.0001	* PL	* S	* NL

Data are Mean ± SE (n = 28 for NL, 25 for PL, and 21 for seston). Bold p-value indicate significant effect (p<0.05).

* and - indicate significant and non-significant difference, respectively.

Presented FA were detected at a level exceeding 2 % in at least one component.

Non-presented FA were: 15:0, 17:0, 20:0, 21:0, 22:0, 24:0, 14:1ω-5, 15:1ω-5, 17:1ω-7, 18:1ω-5, 22:1ω-11, 22:1ω-9, 24:1, 20:2NMI, 20:2ω-6, 22:2ω-6, and 20:3ω-3.

The TFA content of settled post-larvae was $1.9 \pm 0.1 \text{ ng } \mu\text{g}^{-1}$ and it did not vary significantly with both time and lipid fractions (Table 12; Fig. 26g). Levels of MUFA, PUFA, and EFA in post-larvae varied significantly with time (Table 12), but there were very few differences between successive dates (Fig. 26h, i). No major changes occurred in relation to the settlement peak except the significant decrease of EFA (from 25 to 20 % of TFA, at T52–56). The 16:1, 18:1 ω -9, 18:1 ω -7, and 20:5 ω -3 (EPA) were the only individual FA with significant temporal variations (Table 12), but only 16:1 and 18:1 ω -7 significantly varied among successive dates with no relation to the settlement peak (Fig. 26i).

Since there were no significant date x lipid fraction interactions on the post-larval FA composition (Table 12), the detailed FA profiles were compared among lipid fractions (PL and NL) of post-larvae and the seston (Table 13). Post-larval PL and NL were characterized by 8 dominant FA, which accounted together for more than 69 % of FA contents. The 5 most important FA common to both fractions were in decreasing order: 16:0, 22:6 ω -3 (DHA), 18:0, 20:5 ω -3 (EPA), and 16:1. Other dominant FA diverged between fractions: i) 20:1, 20:4 ω -6 (AA), and 20:3 ω -6 in PL, and ii) 18:3 ω -3, 14:0, and 18:4 ω -3 in NL. We observed accumulation of 18:0, 20:1, 18:3 ω -3, 20:3 ω -6, 20:4 ω -6 and 22:6 ω -3 in neutral or polar fractions of post-larvae (lower levels measured in seston). Finally, although 22:2 NMI was not a dominant FA, its content was significantly higher in PL (> 2%) than in NL (< 1%), and almost absent in seston (Table 13).

Among all physiological parameters examined (post-larval size; mass of total lipids, TAG, ST, PhL; SFA, MUFA, PUFA, EFA and mass of TFA in both PL and NL fractions), the mass of TFA in PL fraction was the only one to significantly correlate with the post-larval settlement rate ($Rho = -0.51$, $p = 0.01$). In addition, the regression model provided 6 variables that significantly explained 90 % of the post-larval settlement rate: TFA, EFA, MUFA, and SFA in PL ($R^2 = 0.25$, 0.19 , 0.17 , and 0.05 , respectively); post-larval size and TFA in NL ($R^2 = 0.14$ and 0.10 , respectively).

DISCUSSION

Spatial variability

A highly spatial aggregative distribution of *Mytilus edulis* larvae was observed. This is in agreement with our hypothesis about a strong small-scale spatial variability of veligers, pediveligers and settlers. These results partly contrast with Porri et al. (2006a) who showed a significant variability at the 100-m scale for the settlement of *Perna perna*, but not for larval concentration. Although veliger and settler densities were highly variable at 1-km scale (among stations), we observed a high variability within stations (< 90 m between replicates) for several peaks of pediveligers, suggesting a finer spatial scale of variability for competent larvae. In contrast to pelagic veligers and pediveligers, byssal-drifting post-larvae exhibited a homogeneous spatial distribution at our scale of observation (< 1 km). Various scales of spatial heterogeneity may be related to the morphological features of each developmental stage and to larval behavior as means to increase fitness (Burgess et al. 2009).

Veliger larva is an ontogenic stage oriented towards food acquisition, growth, and reserves accumulation while pediveliger larva is the stage during which there is selection for suitable settlement habitat leading to subsequent metamorphosis into post-larva. Both veligers and pediveligers swim into the water column using their velum, but competent larvae can also crawl on the substratum with their foot and settle through anchoring with byssal treads. When needed, pediveligers can delay their metamorphosis until suitable conditions are found (Bayne 1965) and they also can actively return into the water column using byssal-drifting as a dispersal mode (Sigurdsson 1976). Many morphological changes occur during this 'delay' period, ending up to the complete velum degeneration and thus to a reduction in feeding ability (Bayne 1965). We can hypothesize behavioral differences between early and late pediveligers, as the latter could show lesser substrate discrimination or spontaneous metamorphosis (Bishop et al. 2006a). Without velum, a mussel post-larva can drift into the water column by producing a specific thread, which strongly differs from an attachment thread according to their own structure and origin (Lane et al. 1985). Post-

larvae actively control their dispersal by initiating resuspension, sinking and settlement, until a suitable habitat is encountered for the next developmental stage (Bayne 1964a).

Various scales of spatial heterogeneity during the larval ontogeny could explain the different delays and correlations between veliger and pediveliger time-series. As suggested in Toupoint et al. (Submitted), this delay provides a good estimate of the time required to reach larval competency. Larval development is expected to be very homogenous in such a small semi-enclosed lagoon (3 km²) as suggested by the similar mean larval shell length and the 80 % losses during the larval pelagic phase at all stations. These results are in agreement with Pedersen et al. (2008) demonstrating remarkable unity in larval losses among mollusk taxa.

In contrast with Porri et al. (2006a), our results suggest that the spatial pattern of mussel settlement results from a differential larval availability. In the present study, competent larvae (pelagic pediveligers) immediately settled as benthic pediveligers when a substrate is available. However, the dynamics of pelagic pediveliger and settled post-larvae abundances were decoupled. In agreement with Porri et al. (2008b), the post-larval settlement peak was synchronized in each station while strong differences occurred among stations for the rest of the season. Finally, the number of recruits decreased to a similar value at all stations in late September whatever the spatial variations observed in mussel recruitment during the season. This could be related to processes cancelling the spatial variability observed earlier in life history, such as self-thinning (Frechette et al. 2010, Lachance-Bernard et al. 2010) and fall-off of macro-algae on which post-larvae had settled (Bourque et al. 2004).

Decoupling between larval supply and settlement

Several indications of metamorphosis delay and byssal drifting were observed, and such processes could explain the decoupling between larval supply and settlement. That corroborates assumptions of Pineda et al. (2010), who suggest that behavior is one of the major causes of this distortion. The wide range in shell length observed among

metamorphosed individuals suggests that different developmental stages of post-larvae settled on substratum within 3–4 days. Since individuals $> 400 \mu\text{m}$ settled just after the first occurrence of pelagic post-larva, it justifies our classification of primary (newly metamorphosed larvae) and secondary (byssal-drifting post-larvae) settlers. The decoupling between settled pediveligers and post-larvae as well as the dominance of individuals $> 400 \mu\text{m}$ among settled post-larvae both reflect metamorphosis delay in the lagoon. Such phenomenon was already suspected to occur in the lagoon as Toupoint et al. (Submitted) found large non-metamorphosed individuals in the pelagos in 2007 and Martel et al. (in prep.) observed a net increase in mean size at metamorphosis through the time.

Byssal-drifting and subsequent secondary settlement are important in the lagoon. This is suggested by the presence of pelagic post-larvae (up to 50 % of “ready to settle” individuals) in the water column, the correspondence between their concentration and the size/mass of settled post-larvae, and the growing contribution of $> 400 \mu\text{m}$ post-larvae to settlement (up to 87 %). However, resuspension in the plankton could reduce survival and the possibility to reach new suitable habitats (Thorson 1950), so it could be safer to optimize the substratum exploration while minimizing drifting events. Through byssal-drifting, post-larvae could undergo successive resuspensions until they reach 2 mm (de Blok & Tan-Maas 1976, Sigurdsson 1976). Post-settlement dispersal, which have been demonstrated for many benthic invertebrate species (e.g., de Montaudouin 1997, Wang & Xu 1997, Moksnes et al. 2003, Olivier & Retière 2006), is under behavioral control (Norkko et al. 2001, Lundquist et al. 2004) and scales of dispersal are related to the drifter’s size (Olivier & Retière 2006). In addition, a recent study demonstrated that thread drifters were significantly more abundant during downwelling/relaxation events than during upwelling events (Shanks & Shearman 2011), suggesting that hydrodynamism influences the post-larval resuspension rate. The secondary dispersal phase was first described in *Mytilus edulis* post-larvae by Bayne (1964a) in his primary-secondary settlement theory which proposes that larvae actively settle and metamorphose on a primary substratum (filamentous algae for mussel) which is then abandoned by the post-larvae for a surface more adequate for adult life (adult population for mussel). Some authors working on the

brown mussel (*Perna perna*) demonstrated that the ontogenic change of behavior would occur during the post-larval ageing, as young mussels changed their habitat preferences when reaching 9 mm (Erlandsson et al. 2008).

Post-larval physiological conditions

The bloom of picoeukaryotes did not improve post-larval physiological condition as no biochemical changes in lipid classes and fatty acid composition of post-larvae were observed in relation to the trophic settlement trigger (TST). The mass of total lipids and fatty acids did not vary during the season, no significant distinction occurred between lipid fractions, and neither lipid classes nor FA composition clearly varied in relation with the mussel settlement peak. In fact, TST could operate through quorum sensing signals rather than by offering a nutritive advantage for peri-metamorphic stages, even if the potential nutritive advantage of the plankton bloom could have been used instantaneously by larvae and post-larvae, explaining the absence of changes in their physiological state. It can thus be hypothesized that triggering cue(s) from picoeucaryotes are related to exoproducts secreted by the phytoplanktonic species during the bloom (Starr et al. 1990). Most studies dealing with the role of chemotactism in the settlement process focus on the biofilm and the influence of bacteria and/or eukaryotes (Leyton & Riquelme 2008, Van Colen et al. 2009, Hadfield 2011). However, Toupoint et al. (Chapter 2) suggested a hierarchical order in cues influencing mussel settlement with pelagic factors dominating the benthic factors.

An important depletion of energy reserves was observed in primary settlers including both non-delaying and delaying larvae (< 300 μm and 300–400 μm , respectively). Neutral lipids, and particularly triacylglycerols (TAG), are the primary endogenous energy reserve of bivalve larvae (Holland 1978, Gallagher et al. 1986, Delaunay et al. 1992). In fact, low TAG levels are classically observed in newly settled larvae (Holland & Spencer 1973) as the physiological requirements of metamorphosis induce a strong depletion of energy reserves (Pernet et al. 2006a). In the present study, TAG were detected in post-larvae only when secondary settlers (> 400 μm) exceeded 13 % of the post-larval pool. In addition, our

results showed that TAG were the only lipid class correlated to seawater temperature. Such trend comforted Rayssac et al. (2010) finding, could be explained by a better ingestion rate at high temperature due to higher enzymatic activity (Rico-Villa et al. 2009), thus providing a better accumulation of energy reserve.

The TAG/ST ratio did not vary in parallel to the TST suggesting that the phytoplanktonic bloom did not provide a nutritive advantage for secondary settlers. As levels of lipid classes is related to the size of the organism, TAG content is usually adjusted to the sterols content (ST; neutral structural lipids) to compare the quality of organisms with different sizes. The TAG/ST ratio is correlated to larval growth, survival, and habitat selection (Delaunay et al. 1992, Ouellet et al. 1995) and thus reflects larval quality (Fraser 1989) and could provide a nutritional index (Farias et al. 2003, Ben Kheder et al. 2010b). Globally, the mean value TAG/ST was 6, indicating that late post-larvae would benefit of relatively high food ration during the season (Ben Kheder et al. 2010a). Nevertheless, we cannot exclude a potential biochemical advantage for primary settlers because the use of size classes to characterize post-larvae during the settlement peak could blur the response.

PUFA represented 43-50 % of total fatty acids with EFA levels of 18.4 to 27.6 %. These levels are in good agreement with laboratory studies on bivalve larvae (Leonardos & Lucas 2000) and post-larvae (Gagné et al. 2010). Fatty acids (FA) in bivalves are related to their trophic resources (de Moreno et al. 1976, Langdon & Waldock 1981, Soudant et al. 1999). Briefly, dietary FA are stocked in neutral lipids where they could be either i) degraded through β -oxidation to provide energy, or ii) incorporated in polar lipids involved in membrane structure and cell biochemistry (Bergé & Barnathan 2005). Some polyunsaturated fatty acids (PUFA) including arachidonic (AA, 20:4 ω -6), eicosapentanoic (EPA, 20:5 ω -3), and docosahexaenoic acids (DHA, 22:6 ω -3) are considered essential for growth, development and survival of marine animal organisms (Glencross 2009) and classified as essential fatty acids (EFA). In the present study, PUFA and EFA tended to increase at the end of the season, probably due to metabolic changes along the post-larval ontogeny as the fraction of secondary settlers was higher during this period. But, fatty acids

composition was not clearly related to post-larval developmental stages in contrast to lipid classes.

The higher bioconcentration of DHA, 18:0, EPA, 20:1, 20:3 ω -6, and 22:2 non-methylene interrupted (NMI) found in polar fraction compared to neutral fraction reflected the physiological post-larval requirement in natural environments. DHA was observed to be the most bioconcentrated FA in polar fraction in bivalve larvae (Marty et al. 1992, Soudant et al. 1998), due to its major role in maintaining the membrane structure and integrity (Delaunay et al. 1993). 18:0 has already been described to accumulate in larvae (Alkanani et al. 2007), although it is not considered to be essential (Whyte et al. 1989). In addition, EPA plays an important role in metabolism as a precursor of eicosanoids hormones (Smith & Murphy 2003). Globally, our results on the dominant FA (16:0, DHA, 18:0, EPA, and 16:1) in the post-larvae corroborate previous studies done in both natural and controlled environments (Freites et al. 2002a, Gagné et al. 2010).

Although NMI were not a dominant FA, our results strengthened their physiological importance. In fact, NMI are the only PUFA that marine animals can biosynthesize *de novo* (Barnathan 2009), and they could be a potential alternative PUFA when EFA are deficient (Zhukova & Svetashev 1986, Pernet et al. 2006b). Highly concentrated in PL, and particularly in organs more exposed to the environment (such as gills, mantle or foot; Bergé & Barnathan 2005), NMI are expected to play an important structural-type function (Freites et al. 2002b). In the present study, the bioaccumulation of 18:0 (stearic acid) and 20:1 (eicosenoic acid) could be linked to the NMI biosynthesis because these FA are precursor compounds (Zhukova 1986, 1991).

CONCLUSION

In the present study, we validated our first hypothesis (H1) about important small-scale (< 1 km) variability for mussel larvae and settlers concentration. For pelagic stages, various scales of spatial variation are related to various developmental stages, suggesting that behavior is an important factor to consider in ecological studies about settlement.

Nevertheless, settlement variability has a very moderate impact on recruitment at such spatial small-scales since post-settlement processes homogenize differences later in the season. In addition, we did not validate totally our second hypothesis (H2) as we demonstrated a coupling between larval supply and settlement of non-metamorphosed settlers (pediveligers) and a major decoupling between larval supply and post-larvae settlers which could be related to behavioral features, such as metamorphosis delay and/or byssal-drifting. Finally, we inquired our third hypothesis (H3) since the trophic settlement trigger seems to provide no physiological advantage for mussels, suggesting that TST mostly relies on chemical cues. Nevertheless, these observations could be blurred by the mix of primary and secondary settlers on collectors. Thus, there is a need to separate the distinct developmental stages in such physiological studies. Finally, we confirmed that essential fatty acids (DHA, EPA, and AA) are important for the metabolism of young mussels in a natural autotrophic context, but also showed a special requirement for non-essential ones.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by the Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ), the Société de Développement de l'Industrie Maricole (SODIM), the Réseau Aquaculture Québec (RAQ), the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC), the Canada Research Chairs Program (CRC) and the Canada Foundation for Innovation (CFI). We thank the technical staff of the Centre maricole des Iles-de-la-Madeleine (CeMIM, Cap-aux-Meules, Qc, CA), of the Institut des Sciences de la Mer (ISMER, UQAR, Rimouski, Qc, CA). We address a special thank to the local shellfish farmers (Moules de Culture des Iles Inc and Grande-Entrée Aquaculture Inc.), but also to Gaétan Daigle, from the Département de mathématique et statistique de l'Université Laval (Québec, QC, CA).

CHAPITRE 4

CONCLUSION

Comme chez tous les animaux aquatiques, les lipides constituent la principale source d'énergie chez les larves de bivalve. Les lipides sont constitués de plusieurs classes, dont les deux principales sont les phospholipides et les triglycérides tels que nous l'avons démontré chez les jeunes post-larves. Ces classes de lipides sont constituées d'acide gras dont les niveaux d'insaturation (double liaison) sont plus ou moins importants. Les acides gras polyinsaturés sont de première importance pour la croissance et le développement des larves, et parmi eux certains sont considérés essentiels (EFA) car les bivalves ne peuvent pas les biosynthétiser (Sargent et al. 1997, Glencross 2009). Sur ces bases, la nourriture utilisée en conchyliculture est constituée d'un mélange d'espèces phytoplanctoniques, éventuellement enrichi, qui offre aux larves des taux élevés en EFA (Milke et al. 2004, 2008, Nevejan et al. 2008). Les recherches menées en éclosion quant à l'importance des acides gras pour l'élevage de bivalves se sont concentrées sur le rôle des EFA eicosapentanoïque ($20:5\omega-3$, EPA) et docosahexaénoïque ($22:6\omega-3$, DHA), et dans une moindre mesure, arachidonique ($20:4\omega-6$, AA). Bien que de récents travaux suggèrent que la performance larvaire dépend d'un bon équilibre entre les EFA en plus de la quantité totale de ces derniers (Pernet & Tremblay 2004, Pettersen et al. 2010), les réels besoins en EFA chez les larves de bivalve sont encore peu détaillés (Marshall et al. 2010).

Les recherches menées en milieu naturel impliquent l'utilisation des acides gras comme marqueurs alimentaires par l'étude de leur transfert entre les différents échelons d'un réseau trophique (Napolitano et al. 1997, Iverson et al. 2004, Thiemann et al. 2008). Le rôle majeur joué par les EFA a également été suggéré en conditions naturelles (Brett & Muller-Navarra 1997, Muller-Navarra et al. 2000) et les EPA, AA et DHA sont considérés

comme les plus importants dans les réseaux trophiques aquatiques (Muller-Navarra et al. 2004). Néanmoins, les résultats obtenus sont moins nuancés que ceux acquis en laboratoire puisqu'une certaine homéostasie s'installe face aux variations du milieu (Muller-Navarra 2006). En effet, dans un contexte de productivité, une emphase particulière a pu être portée sur la qualité de la nourriture en adaptant les facteurs environnementaux à l'espèce cultivée, même si l'optimisation de ces derniers constitue une des contraintes majeures de l'industrie (Robert & Gerard 1999). En milieu naturel, les variations chroniques (saisons, marées et rythme circadien) et ponctuelles (événements climatiques, perturbations anthropiques) sont des facteurs susceptibles de relativiser les effets décrits en conditions contrôlées, puisqu'elles affectent non seulement les paramètres environnementaux, mais aussi les conditions trophiques et les multiples interactions biotiques au sein d'un écosystème.

À notre connaissance, le présent projet de recherche constitue la première étude menée en milieu naturel qui traite de l'influence de la composition lipidique de la ressource trophique au cours de l'étape cruciale du développement, à savoir le recrutement. Ayant pour objectif initial de tester le rôle nutritionnel des EFA dans le plancton et le biofilm, cette recherche fournit des informations originales sur les mécanismes impliqués dans la fixation des jeunes moules (*Mytilus edulis*, Linnaeus 1758; Figure 27). En particulier, elle met en évidence le contrôle prédominant que peuvent exercer les communautés phytoplanctoniques sur le succès de recrutement de la moule bleue en montrant l'existence i) d'un « *match/mismatch* » avec la qualité lipidique du plancton et ii) d'un déclencheur trophique de la fixation (« *trophic settlement trigger* », TST). Cependant, bien que le rôle nutritionnel des EFA semble important pour le recrutement de l'année, aucune influence particulière ne fut observée sur les comportements de fixation face aux variations des communautés benthiques (biofilm) et pélagiques (plancton) au cours d'une saison. Les larves et post-larves de moule semblent être fortement influencées par l'abondance du picoplancton autotrophe (picoeucaryotes, 0.2–2 μm) au sein des communautés benthiques et pélagiques. Des études complémentaires seraient nécessaires pour statuer sur la nature des interactions existantes entre les jeunes moules et ce petit phytoplancton.

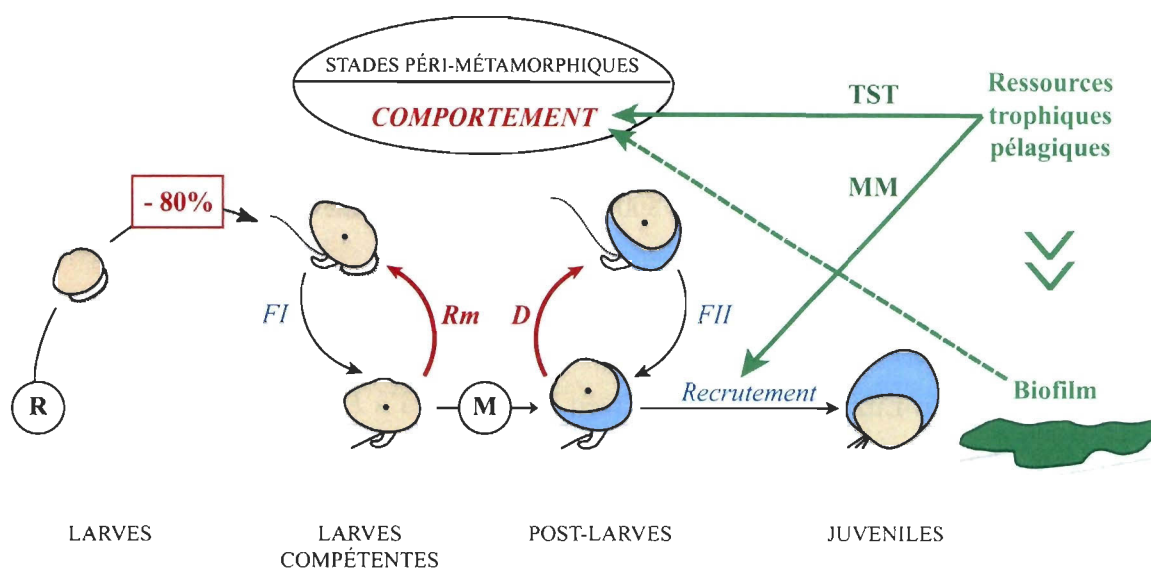


Figure 27: Schéma conceptuel montrant les mécanismes identifiés au cours du projet.

R = reproduction ; M = métamorphose ; FI et FII = fixation primaire et secondaire ; Rm = retard de métamorphose ; Db = dérive bysso-pélagique ; TST = trophic settlement trigger ; MM = match-mismatch.

MATCH/MISMATCH AVEC LA QUALITÉ DE LA NOURRITURE

Les résultats acquis au cours de cette étude fournissent des données complémentaires à la théorie du « *match/mismatch* » de Cushing (1990) en proposant que le succès de recrutement de la moule bleue, *Mytilus edulis*, ne dépend pas seulement de la quantité de la ressource trophique et de la dynamique de sa production. Pour la première fois, cette étude suggère que le recrutement est amélioré lorsque, à concentration équivalente, le seston est plus riche en EFA durant la période de développement larvaire (Chapitre 1). Cela appuie les précédentes hypothèses émises quant à la meilleure efficacité d'un réseau trophique autotrophe (Berglund et al. 2007, Perhar & Arhonditsis 2009). En 2007, la qualité lipidique de la ressource trophique était caractérisée par des taux très faibles en EFA (< 2 %), qui reflèteraient la dominance d'une production hétérotrophe. En 2008, les taux en EFA (22 %) étaient typiques d'une production autotrophe qui fut confirmée par l'analyse du plancton au cytomètre de flux. A cet égard, la composition en acide gras déterminée chez les post-larves en 2008 atteste de l'accumulation de ces EFA (Chapitre 3). Étant donnée l'importance qui leur est attribuée au cours de l'ontogénie larvaire et post-larvaire

(Langdon & Waldock 1981, Delaunay et al. 1993, Soudant et al. 1998, Labarta et al. 1999, Pernet & Tremblay 2004, Pernet et al. 2005, Gagné et al. 2010), les recrues de 2008 auraient bénéficié d'un avantage physiologique qui pourrait expliquer un meilleur taux de recrutement de 16 100 ind/m contre 9 800 ind/m en 2007 à la fin du mois d'août.

Globalement, nos résultats suggèrent que la variation interannuelle du taux en EFA dans le plancton est susceptible d'affecter la dynamique des populations en milieu marin, tel que le propose Litzow et al. (2006) avec le concept d'« *EFA limitation* ». Ces auteurs suggèrent qu'une restriction en EFA dans le réseau trophique pélagique affecte la structure des communautés de poissons, et pourrait, par voie de fait, influencer celle des niveaux trophiques supérieurs. Toutefois, une caractérisation du profil lipidique des recrues de 2007 aurait été nécessaire pour valider l'hypothèse d'un avantage physiologique en 2008. Classiquement, les animaux marins contiennent des taux élevés en acides gras polyinsaturés de type oméga trois à longues chaînes carbonées (ω -3 PUFA) (Joseph 1982) qui, produits par les organismes autotrophes (Viso & Marty 1993, Saito 2004), s'accumulent dans les niveaux supérieurs des réseaux trophiques (Kainz et al. 2004, Saito et al. 2005).

Alors que la capacité de biosynthèse des ω -3 PUFA, tels que EPA et DHA, est considérée comme nulle chez les bivalves (Marty et al. 1992, Delaunay et al. 1993, Soudant et al. 1998, Glencross 2009), ces derniers peuvent néanmoins biosynthétiser *de novo* des acides gras non-méthylène interrompus (NMI; Ackman & Hooper 1973, Paradis & Ackman 1977, Zhukova 1986, Barnathan 2009), qui constituent des PUFA alternatifs lors d'une déficience en EFA (Klingensmith 1982, Zhukova et al. 1992, Pernet et al. 2006b). Ainsi, les conditions trophiques observées en 2007 ne permettant pas aux jeunes recrues de moule d'accumuler des EFA, ces dernières devraient contenir des taux élevés en NMI. En outre, le fait que les post-larves aient concentré un minimum de NMI dans leurs tissus malgré la présence d'une ressource riche en EFA (2008, Chapitre 3) atteste du rôle important de ces acides gras 'non-essentiels', qui sont souvent associés aux membranes chez les bivalves (Zakharstev et al. 1998, Kraffe et al. 2004, Pernet et al. 2006b, Alkanani

et al. 2007). Rares sont les études menées en milieu côtier qui montrent des taux en EFA proches de zéro et des NMI dominant les PUFA chez des moules (Biandolino et al. 2008, Prato et al. 2010). Jusqu'à présent, de tels profils ont généralement été observés dans les milieux extrêmes que sont les sources hydrothermales, où la production autotrophe est nulle (Pond et al. 1998, Saito 2008, Colaço et al. 2009).

L'étude taxonomique des communautés planctoniques de 2007 serait nécessaire pour confirmer les profils lipidiques observés. En effet, les taux infimes en EFA mesurés dans le seston sont habituellement décrits pour des milieux oligotrophes polaires (Fahl & Kattner 1993, Falk-Petersen et al. 1998) ou profonds (Rossi et al. 2008). Ils sont particulièrement atypiques des zones côtières, où la production autotrophe est souvent considérée dominante. De faibles concentrations en PUFA peuvent être reliées à une intense oxydation de la matière organique particulaire lorsque les nutriments et la production phytoplanctonique sont limités et/ou les détritiques concentrés (Mayzaud et al. 1989, Parrish et al. 2005). Néanmoins, ces périodes sont plutôt épisodiques et ne caractérisent pas les conditions rencontrées pendant une saison entière telle qu'observées dans la présente étude. Les lagunes côtières des Îles de la Madeleine sont des milieux oligotrophes, où la production primaire est forte, dominée par de petites cellules et soutenue par un réseau trophique bactérien (Roy et al. 1991, Trottet et al. 2007). Au demeurant, ce type de production a déjà été observé dans d'autres environnements lagunaires (LeBorgne et al. 1997, Dupuy et al. 2000, Gilabert 2001, Perez-Ruzafa et al. 2002). En se basant sur l'analyse de la composition en acides gras du seston, Mudge et al. (1998) ont observé que les lagunes côtières à production bactérienne dominante sont typiques des zones de rejets anthropiques qui communiquent avec des eaux marines.

Les profils lipidiques obtenus au cours de la saison 2007 refléteraient donc une production bactérienne accrue et la divergence observée en 2008 (production phytoplanctonique typique) suggère une importante variabilité interannuelle des conditions trophiques. L'activité et la composition planctonique d'un écosystème dépendent des nutriments, et la récente appréhension de phénomènes complexes au sein des communautés

microbiennes (fixation de l'azote, dénitrification, oxydation de l'ammonium) impose la révision des principes de bases du recyclages des nutriments (Arrigo 2005). Dans ce sens, Malzhan et al. (2007) suggèrent que l'assouvissement des besoins en nutriments chez les consommateurs, tels que les larves de moule, est un pré-requis pour que la qualité lipidique de la ressource trophique puisse influencer leur croissance. La compréhension du fonctionnement des écosystèmes marins côtiers requiert donc la connaissance des mécanismes susceptibles de moduler la production planctonique, dont découlent directement des phénomènes régulateurs de la dynamique des populations, tel que le match/mismatch.

Ainsi, des campagnes de terrain additionnelles prévoyant les mêmes analyses qu'en 2008 seraient à envisager afin de confirmer le principe du « *match/mismatch* » avec la qualité de la ressource en milieu naturel. Toutefois, cela pourrait s'avérer fastidieux puisque l'idéal serait bien sûr de pouvoir répliquer chacune des deux situations observées ici. De plus, bien qu'une grande diversité de paramètres ait été suivie en 2007 et 2008, la présente étude n'a pas pris en compte l'advection larvaire hors de la lagune. Il serait donc pertinent de l'évaluer lors de prochaines sessions d'échantillonnage car elle est susceptible d'affecter le succès de recrutement et peut alors nuancer l'importance de la qualité de la ressource trophique. La construction d'un modèle de productivité larvaire constituerait une bonne méthode d'évaluation de cette advection. L'estimation du stock de géniteurs, *via* l'inventaire des gisements, et de leur capacité de reproduction, *via* des analyses histologiques, permettrait de calculer des densités larvaires théoriques et de les comparer avec les concentrations observées. La différence entre les deux valeurs reflèterait alors l'export potentiel des larves.

LE COMPORTEMENT DE LA FIXATION

Malgré les différents contextes trophiques observés en 2007 et 2008, les résultats obtenus fournissent des indications communes quant au comportement des larves et post-larves de moule, qu'elles soient benthiques ou pélagiques. Tout d'abord, la concentration

larvaire et le taux de fixation à petite échelle spatiale présentent une importante variabilité spatio-temporelle (< 1 km; Chapitre 1 et 3). En effet, les larves pélagiques de moule se distribuent le plus souvent de manière agrégative (McQuaid & Phillips 2000) et leurs abondances peuvent varier très fortement à très petite échelle temporelle (Pulfrich 1997). Il est largement admis que la dispersion à grande échelle est influencée par l'hydrodynamisme (Pineda 1991, Bertness et al. 1996), mais le comportement des individus est aussi un facteur à ne pas négliger (Dobretsov & Miron 2001, Metaxas 2001). La présente étude suggère une modulation des patrons de variation au cours de l'ontogénie et relie ce phénomène aux différences comportementales (Chapitre 3). Cela conforte l'idée que les larves planctoniques ne doivent pas être considérées comme des particules inertes (Shanks & Brink 2005, Morgan et al. 2009), et ce particulièrement lorsqu'elles deviennent compétentes (Baker & Mann 2003). Malgré la contrainte que peut représenter l'hydrodynamisme (Butman 1987), les larves compétentes (pédivéligères) ont la capacité de se fixer au substrat *via* la production de byssus afin d'initier leur métamorphose en post-larves. A ce stade, le comportement des larves pédivéligères devient critique car elles ont la capacité de rejeter ou de sélectionner un substrat pour à terme se métamorphoser en post-larves.

Bien que le patron de distribution spatio-temporelle des pédivéligères pélagiques (larves compétentes) devrait en toute logique expliquer celui des post-larves benthiques, un découplage benthopélagique est habituellement constaté (Miron et al. 1995). Pineda et al. (2010) ont suggéré que le comportement est l'un des facteurs les plus explicatifs de ce phénomène. Les résultats obtenus au cours de la présente recherche confirment l'existence d'un découplage entre la disponibilité larvaire et le nombre d'individus métamorphosés (Chapitre 1). Cependant, la proportion non-négligeable d'individus non-métamorphosés parmi les jeunes recrues sur le substrat (pouvant représenter plus de 50 %) a mis en évidence, pour la première fois, un couplage benthopélagique (Chapitre 3). Corroborant l'hypothèse de Pineda et al. (2010), l'analyse des structures de taille des individus benthiques et pélagiques suggère que les sources du découplage sont reliées aux deux traits comportementaux classiquement décrits chez les jeunes recrues de moule soit, le retard de

métamorphose (Bayne 1965, Pechenik 1990) et la dérive bysso-pélagique (Bayne 1964a, Sigurdsson 1976). Cela souligne l'importance de distinguer les différents stades de développement lors des études menées sur le recrutement.

Les résultats acquis au cours de ce projet de recherche confirment ce qui est habituellement décrit quant à l'effet de l'âge du biofilm sur le comportement de fixation des larves de moule (Bao et al. 2007a, Peteiro et al. 2007), en montrant que la fixation est favorisée sur des biofilms âgés de plus d'une semaine (Chapitre 2). Ces résultats confirment donc la capacité qu'ont les larves à 'sélectionner' un microhabitat adéquat à leur fixation (Bourget et al. 1994, Toonen & Tyre 2007) et le rôle important que joue la composition du biofilm pour le recrutement des invertébrés benthiques (Keough & Raimondi 1995, Wiczorek & Todd 1998, Olivier et al. 2000). Habituellement, on admet la présence d'une relation chimique entre le biofilm et la fixation des larves, qui ont donc la capacité de percevoir les molécules secrétées par les espèces benthiques du biofilm (Thiyagarajan 2010, Hadfield 2011). De plus, l'importance de la fixation secondaire observée dans cette étude (Chapitre 3) suggère que de tels mécanismes influencent aussi le comportement de fixation des jeunes post-larves. Des études complémentaires détaillant avec précision les différents stades présents sur les collecteurs seraient donc nécessaires pour évaluer l'influence du biofilm au cours de l'ontogénie post-larvaire.

Cependant, si les jeunes recrues peuvent détecter le biofilm par chimiotactisme, quel est le rôle d'un tel pouvoir de détection à l'égard des micro-organismes? Puisque l'alimentation déposivore, possible grâce à l'utilisation du pied (« pedal feeding »; Veniot et al. 2003), apparaît comme une voie d'alimentation complémentaire chez les stades péri-métamorphiques (Cannuel et al. 2009), il semble envisageable de considérer le biofilm comme une source de nourriture potentielle. De fait, les consommateurs du biofilm s'alimentent non seulement aux dépens des microorganismes qui le composent, mais aussi des exopolymères qu'ils sécrètent (EPS; Decho 1990, Wotton 2004, Bhaskar & Bhosle 2006). L'étude du contenu biochimique des post-larves fixées sur les différents biofilms permettrait donc de statuer sur le rôle trophique du biofilm. Il faudrait toutefois envisager

une évaluation des teneurs en glucides et/ou protéines, puisque l'analyse seule des lipides ne permet pas de prendre en compte l'influence éventuelle des EPS, qui sont principalement composés de polysaccharides (Bellinger et al. 2005). Les résultats obtenus au cours de cette recherche fournissent tout de même des informations préliminaires quant aux types d'organismes susceptibles d'influencer la fixation, tels que les picoeukaryotes et/ou les bactéries Planctomycètes.

La présente étude offre une description originale détaillée du développement d'un biofilm multi-spécifique en milieu naturel (Chapitre 2). L'utilisation d'une grande diversité de techniques d'analyse confirme que chacune d'entre elles ne fournit qu'une information partielle (Savin et al. 2004) et suggère qu'une caractérisation représentative de la communauté associée au biofilm requiert le couplage de plusieurs méthodes. Les différents traitements appliqués avant chaque analyse peuvent induire une source notable de divergences, particulièrement pour les résultats concernant les eucaryotes. Par exemple, les analyses génétiques sont réalisées à partir de la solution dans laquelle est immergé le substrat contenant le biofilm, alors que les analyses microscopiques sont faites directement sur le substrat conservé dans une solution. Ainsi, il n'est pas étonnant que des copépodes harpacticoides, organismes vagiles associés au biofilm (Dahms et al. 2007), ne soient identifiés que dans les banques de clones génétiques. Basées sur l'amplification de l'acide ribonucléique ribosomique (rRNA), ces banques sont habituellement utilisées dans ce type d'étude car elles fournissent une bonne estimation de la structure des communautés.

Néanmoins, la méthode d'amplification en chaîne par polymérase comporte de nombreux biais (PCR; Acinas et al. 2005), dont celui de surestimer les clades dominantes (Nocker et al. 2004). Dans la présente étude, la présence d'organismes aussi gros que des copépodes pourrait empêcher la détection d'espèces plus petites, telles que les diatomées *Cocconeis sp.* (Hudon & Bourget 1981) ou les choanoflagellés *Volkanus costatus* et *Acanthoea spectabili* (Leadbeater 2008). Ces espèces n'ont pas été identifiées à partir des analyses génétiques, alors qu'elles sont constitutives du biofilm puisqu'elles ont été observées à plusieurs reprises au microscope électronique. Dans le cas présent, la

caractérisation de la composition en acides gras permet de corroborer les précédentes observations puisque les teneurs élevées en 14 :0, 16:1 ω -7 et EPA suggèrent la présence de diatomées (Dalsgaard et al. 2003). A l'avenir, il serait donc recommandé de réaliser un prélavage de tout échantillon afin de détacher la faune associée et ne conserver que les espèces propres au biofilm.

UN DÉCLENCHEUR TROPHIQUE DE LA FIXATION

La mise en évidence d'un possible déclencheur trophique de la fixation (« *trophic settlement trigger* », TST) constitue le point majeur de la présente étude. Pour la première fois, l'induction de la fixation d'une espèce d'invertébrés benthiques est associée avec la production phytoplanctonique puisqu'à deux reprises, une floraison (« *bloom* ») d'autotrophes fut synchrone avec le pic de fixation maximale des moules (2007 et 2008; Chapitre 1). Cette production planctonique éphémère (< 7 et 4 jours en 2007 et 2008, respectivement) jouerait donc un rôle majeur dans le succès de recrutement *via* l'induction potentielle du pic de fixation. Aussi, le TST pourrait constituer un 'mécanisme de secours' lors des années où la ressource trophique est de piètre qualité lipidique comme en 2007. Habituellement, les inducteurs de la fixation-métamorphose chez les invertébrés benthiques se réfèrent à des composés sécrétés par des espèces associées au substrat (Holmstrom & Kjelleberg 1994, Keough & Raimondi 1995, Botello & Krug 2006, Dobretsov & Wahl 2008), et non dans la colonne d'eau. En effet, on considère habituellement que les larves qui ont la capacité de sélectionner leur futur habitat, en évaluent la qualité lors de la phase de prospection et 'choisissent' celui qui leur permettra d'optimiser leur valeur sélective ou « *fitness* » (Raimondi 1988).

Nos résultats suggèrent l'importance de considérer le pelagos comme une composante à part entière de l'habitat des espèces benthiques suspensivores, d'autant plus que la production planctonique constitue l'essentiel de leur ressource trophique. Chez la moule bleue, d'importantes transformations morphologiques opèrent lors du retard de la métamorphose, impliquant la perte progressive des caractères larvaires et le développement

de structures post-larvaires (Bayne 1965). Cette décroissance de la rétention de l'état larvaire caractérise l'hypothèse de « rétention variable » (Bishop et al. 2006a), qui semble donc la plus adaptée pour décrire le comportement pré-métamorphique de la moule. Selon elle, les pédivéligères perdraient progressivement leur capacité de discrimination ou se métamorphoseraient spontanément. Bien que la présente recherche ne permette pas de statuer sur l'issue du retard de métamorphose, elle suggère qu'un bloom de picoeucaryotes est susceptible de synchroniser le pic de fixation maximale chez la moule bleue, quel que soit le niveau de discrimination (Chapitre 3). Pourtant, la variabilité de la réponse d'une espèce à un signal particulier est tellement importante qu'elle ne peut pas constituer une exception (Raimondi & Keough 1990, Toonen & Pawlik 2001).

Généralement, les modèles écologiques du comportement suggèrent que le 'choix' de fixation dépend avant toute chose du temps alloué à la recherche et de la fréquence de rencontre avec un habitat de qualité (Stamps et al. 2005, Toonen & Tyre 2007). Ainsi, même si la larve répond à une hiérarchie de facteurs (Kingsford et al. 2002), sa capacité à sélectionner un habitat pour sa fixation-métamorphose serait très contextuelle et propre à son histoire. Cette hypothèse pourrait expliquer les variations que nous avons observées pour l'effet du biofilm à une même date (Chapitre 2), mais aussi le découplage benthopélagique en dehors des blooms planctoniques. En effet, le pic de fixation est l'élément le plus évident du découplage qui pourtant ne montre aucune variabilité spatio-temporelle : il intervient bien après le pic de concentration de larves pédivéligères (Chapitre 1) et ce, à la même date et avec la même intensité, dans toutes les stations d'étude (Chapitre 3). De plus, l'effet positif de l'âge du biofilm disparaît au moment du pic de fixation, suggérant que le signal planctonique prime sur la qualité de l'habitat benthique (Chapitre 2). Cela révèle toute l'importance du TST qui synchronise la fixation quelque soit le niveau de discrimination des jeunes moules et la qualité de l'habitat benthique.

Très peu d'études traitent de la synchronisation de la fixation. La température de l'eau (Narvaez et al. 2006, Lagos et al. 2007) et le cycle lunaire (Pineda 2000, Porri et al. 2006b) sont généralement suggérés comme déclencheurs potentiels, mais la relation avec la

fixation n'est jamais évidente. Dans la présente étude, l'effet inducteur d'une communauté planctonique est suggéré en 2008, puisque la concentration en picoeucarotes est corrélée avec le taux de fixation. Cependant, la prochaine étape incontournable serait de mener des expérimentations en laboratoire afin d'exclure tout facteur potentiellement confondant et de tester la véracité du TST. L'acquisition de données supplémentaires au sein du même site d'étude lors d'une année sans TST pourrait toutefois permettre d'évaluer l'importance de ce phénomène sur la dynamique des populations. Quoiqu'il en soit, l'originalité des résultats acquis au cours de cette recherche repose sur le fait que la synchronisation de la fixation dépendrait du comportement des jeunes recrues et non d'une advection larvaire ou d'une ponte massive.

Selon Pineda (2000), la mise en évidence d'un déclencheur du comportement de fixation requiert l'identification du transport potentiel des larves dans la zone de fixation ainsi qu'un argumentaire décrivant l'avantage qu'ont les larves à rester dans la colonne d'eau à attendre le déclencheur. Dans le cas présent, le suivi à haute fréquence des concentrations larvaires n'a pas révélé d'apport particulier de larves à la date du pic de fixation, et le couplage entre la quantité des larves dans l'eau et le taux de fixation de larves non-métamorphosées attestent du rôle important du comportement : le TST synchroniserait la métamorphose chez les larves pédivéligères (avec ou sans retard de métamorphose), mais aussi la fixation des post-larves en dérive bysso-pélagique (Chapitre 3). La moule bleue dispose d'un avantage certain en étant capable de réaliser plusieurs fixations primaires et secondaires (Bayne 1964a) puisque sa phase de prospection ne s'achève pas à la métamorphose. Les résultats acquis lors de cette étude suggèrent donc que le TST jouerait le rôle d'un déclencheur de la fixation des larves et post-larves en dérive bysso-pélagique au moment où la production planctonique serait le garant d'une bonne valeur sélective, ou « *fitness* ».

Les travaux qui traitent des phénomènes de synchronisation chez les invertébrés benthiques, concernent le plus souvent la ponte massive des adultes en réponse à des signaux environnementaux (revue de Morgan 1995b, Guest et al. 2005, Baird & Guest

2009). La production phytoplanctonique a d'ailleurs été identifiée comme un inducteur de la ponte chez les invertébrés (Desai & Anil 2005, Ouellet et al. 2007). Particulièrement, Starr et al. (1990, 1991) ont montré que, chez la moule bleue, ce sont les métabolites sécrétés par les cellules phytoplanctoniques qui sont responsables du synchronisme et qui indiqueraient aux géniteurs que les conditions biotiques et abiotiques sont favorables pour le développement et la survie des larves. Bien que les phénomènes induits soient radicalement différents, il serait possible d'envisager le même type de mécanisme pour la synchronisation de la fixation. Face à la question du 'pourquoi être sélectif?' (Gibson 1995), la présente étude partait du postulat que les jeunes moules intensifient leur métamorphose en réponse à un bloom de phytoplancton qui leur fournirait un surplus d'énergie. Bien qu'aucun avantage physiologique n'ait été observé lors du TST (Chapitre 3), le type de cellules planctoniques produites à ce moment pourrait tout de même constituer un environnement trophique de choix pour les stades péri-métamorphiques, mais aussi pour les adultes. Ainsi, présageant de leur récurrence potentielle, de tels blooms seraient des indicateurs de qualité des habitats disponibles à ce moment. Toutefois, cela n'est valable que si les stades péri-métamorphiques et les adultes ont un préférendum trophique commun. Dans ce sens, Beck et al. (2003) ont montré lors d'une étude sur l'alimentation sélective chez *Villosa iris* que les post-larves et les adultes ingèrent préférentiellement la même gamme de taille de particules.

La caractérisation de la ressource trophique disponible pour les jeunes recrues de moule suggère que le TST repose sur la production de picoeucaryotes dans le plancton (Chapitre 1). Le fait que ces organismes de petite taille (0.2–2 μm) soient aussi incriminés dans la relation entre les jeunes recrues et le biofilm (Chapitre 2) conforte l'importance de cette communauté pour la fixation de *M. edulis*. La première description d'une espèce picoeucaryote date de 1952, avec la découverte de *Chromulina pusilla* (Butcher), actuellement connue sous le nom de *Micromonas pusilla* (Manton & Parke 1960). La plus petite espèce d'eucaryote connue à l'heure actuelle fut découverte en 1994, dans l'Étang de Thau (France) : *Ostreococcus tauri* (Courties et al. 1994, Chretiennot-Dinet et al. 1995). Malgré une grande ubiquité, les picoeucaryotes sont très diversifiés (Slapeta et al. 2006,

Worden 2006, Kirkham et al. 2011, Piganeau et al. 2011), d'autant plus qu'une même espèce peut présenter plusieurs écotypes en fonction des conditions environnementales (Rodriguez et al. 2005, Foulon et al. 2008, Six et al. 2008). Une fraction considérable de la production primaire aquatique mondiale (estimée à 10 %) serait attribuable au picophytoplancton, dont la petite taille lui confère un avantage compétitif quant à l'acquisition des nutriments (Raven 1998), et ce particulièrement en milieu oligotrophique.

Dans le cadre de cette étude, la variation interannuelle de production autotrophe à l'intérieur de la lagune pourrait dépendre de la dominance relative du plancton par les picoeucaryotes, dont la production annuelle peut s'expliquer par la variabilité des échanges de masse d'eau avec l'extérieur de la lagune (Thomas et al. 2010). A l'échelle saisonnière, l'abondance et la biomasse des picoeucaryotes sont influencées par l'irradiation solaire, la température de l'eau (Vaquer et al. 1996) et la concentration en ammonium (Bec et al. 2005). Il serait donc pertinent d'entreprendre une caractérisation fine de la communauté picoplanctonique de la lagune afin de déterminer quelle est (ou sont) l'espèce (ou les espèces) impliquée(s) dans le TST, *via* l'identification de séquences nucléiques (Moon-van der Staay et al. 2001) ou l'utilisation de sondes d'oligonucléotides (Simon et al. 1995, Not et al. 2002). Bien que *Micromonas pusilla* semble être l'espèce de picoeucaryote la plus ubiquiste et cosmopolite décrite jusqu'à maintenant (Thomsen & Buck 1998, Not et al. 2004), *Ostreococcus tauri* semble jouer un rôle important en milieu côtier et lagunaire (Chretiennot-Dinet et al. 1995, Fouilland et al. 2004). Cette espèce a des capacités d'adaptation car elle peut survivre dans des conditions de faibles concentrations en nutriments (Cardol et al. 2008, Le Bihan et al. 2011), telles qu'observées dans le présent site d'étude. Enfin, constituant une importante source de carbone pour le microzooplancton, cette espèce est habituellement soumise à un important broutage, que l'absence de paroi cellulaire peut expliquer (Worden et al. 2004).

Conclusion

En conclusion, la présente étude apporte des informations novatrices et complémentaires aux grandes théories du recrutement chez les invertébrés benthiques *via* la mise en évidence de deux concepts régulateurs du succès de recrutement : le « *match/mismatch* » avec la qualité de la nourriture et le « *trophic settlement trigger* ». L'observation de ces deux phénomènes souligne l'importance de considérer la composante planctonique lors des travaux menés sur la dynamique des populations en milieu naturel, en portant une emphase particulière sur sa qualité lipidique et sa composition taxonomique. De plus, cette recherche témoigne du rôle important que peut jouer le comportement dans le processus de recrutement chez les invertébrés benthiques. Dans le cas du modèle *Mytilus edulis* (Linnaeus, 1758), la phase de prospection du futur habitat benthique concerne les stades péri-métamorphiques, qui ont la capacité d'en allonger la durée en exécutant deux processus bien connus chez cette espèce : le retard de métamorphose et la dérive bysso-pélagique.

Le fait qu'un animal à la recherche d'un nouvel habitat réponde à des signaux spécifiques constitue une problématique de base en écologie. La présente recherche confirme que la détermination du rôle de ces signaux est souvent complexe et suggère la nécessité d'associer des tests menés en laboratoire (effet du signal isolé) à des expérimentations en milieu naturel (mise en contexte de l'effet). La notion d'un « *trophic settlement trigger* » apporte de nouvelles pistes de réflexion quant à l'écologie des invertébrés benthiques puisqu'il s'agirait d'un signal indépendant de l'habitat prospecté qui synchroniserait un comportement commun de fixation, peu importe la qualité de l'habitat et/ou l'histoire de vie des jeunes recrues.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AABEL JP. 1983. Morphology and function in postmetamorphical *Abra alba* (Bivalvia: Tellinacea). Sarsia. 68:213-219.

ACINAS SG, SARMA-RUPAVTARM R, KLEPAC-CERAJ V, POLZ MF. 2005. PCR-induced sequence artifacts and bias: Insights from comparison of two 16S rRNA clone libraries constructed from the same sample. Applied and Environmental Microbiology. 71(12):8966-8969.

ACKERMANN B, ESSER M, SCHERWASS A, ARNDT H. 2011. Long-term dynamics of microbial biofilm communities of the river Rhine with special references to ciliates. International Review of Hydrobiology. 96(1):1-19.

ACKMAN RG, HOOPER SN. 1973. Non-methylene-interrupted fatty acids in lipids of shallow-water marine invertebrates: A comparison of two molluscs (*Littorina littorea* and *Lunatia triseriata*) with the sand shrimp (*Crangon septemspinosus*). Comparative Biochemistry and Physiology Part B Biochemistry & Molecular Biology. 46(1):153-165.

ACKMAN RG, TOCHER CS, MCLACHLAN J. 1968. Marine phytoplankter fatty acids. Journal of the Fisheries Research Board of Canada. 25(8):1603-1620.

ALFARO AC. 2005. Effect of water flow and oxygen concentration on early settlement of the New Zealand green-lipped mussel, *Perna canaliculus*. Aquaculture. 246(1-4):285-294.

ALFARO AC. 2006. Byssal attachment of juvenile mussels, *Perna canaliculus*, affected by water motion and air bubbles. Aquaculture. 255(1-4):357-361.

ALJANABI SM, MARTINEZ I. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. Nucleic Acids Research. 25(22):4692-4693.

ALKANANI T, PARRISH CC, THOMPSON RJ, MCKENZIE CH. 2007. Role of fatty acids in cultured mussels, *Mytilus edulis*, grown in Notre Dame Bay, Newfoundland. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 348(1-2):33-45.

AMINOT A, CHAUSSEPIED M. 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin. Brest: CNEXO, BNDO. 395 p.

ANDERSON JT. 1988. A review of size dependent survival during pre-recruit stages of fishes in relation to recruitment. Journal of Northwest Atlantic Fisheries Science. 8:55-66.

ANDERSON MJ, GORLEY RRN, CLARKE KR. 2008. PERMANOVA+ from Primer: Guide to software and statistical methods. In: Plymouth, UK.

ARCHAMBAULT P, BOURGET E. 1999. Influence of shoreline configuration on spatial variation of meroplanktonic larvae, recruitment and diversity of benthic subtidal communities. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 241(2):309-333.

ARRIGO KR. 2005. Marine microorganisms and global nutrient cycles. Nature. 437(7057):349-355.

AUCOIN F, DOIRON S, NADEAU M. 2004. Guide to sampling and identifying larvae of species of maricultural interest / Guide d'échantillonnage et identification des larves d'espèces à intérêt maricoles. n° Publication G005. p.

AUEL H, HARJES M, DA ROCHA R, STÜBING D, HAGEN W. 2002. Lipid biomarkers indicate different ecological niches and trophic relationships of the Arctic hyperiid amphipods *Themisto abyssorum* and *T. libellula*. Polar Biology. 25(5):374-383.

AVENDANO-HERRERA R, RIQUELMES C, SILVA F, AVENDANOD M, IRGANG R. 2003. Optimization of settlement of larval *Argopecten purpuratus* using natural diatom biofilms. Journal of Shellfish Research. 22(2):393-399.

BACHOK Z, MFILINGE PL, TSUCHIYA M. 2003. The diet of the mud clam *Geloina coaxans* (Mollusca, Bivalvia) as indicated by fatty acid markers in a subtropical mangrove forest of Okinawa, Japan. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 292(2):187-197.

BAIRD AH, GUEST JR. 2009. Spawning synchrony in scleractinian corals: Comment on Mangubhai & Harrison (2008). Marine Ecology Progress Series. 374:301-304.

BAKER P, MANN R. 2003. Late stage bivalve larvae in a well-mixed estuary are not inert particles. Estuaries. 26(4A):837-845.

- BALDWIN BS, NEWELL RIE. 1995. Feeding rate responses of oyster larvae (*Crassostrea virginica*) to seston quality and composition. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 189(1-2):77-91.
- BAO WY, SATUITO CG, YANG JL, KITAMURA H. 2007a. Larval settlement and metamorphosis of the mussel *Mytilus galloprovincialis* in response to biofilms. *Marine Biology*. 150(4):565-574.
- BAO WY, YANG JL, SATUITO CG, KITAMURA H. 2007b. Larval metamorphosis of the mussel *Mytilus galloprovincialis* in response to *Alteromonas* sp. 1: evidence for two chemical cues? *Marine Biology*. 152(3):657-666.
- BARNATHAN G. 2009. Non-methylene-interrupted fatty acids from marine invertebrates: Occurrence, characterization and biological properties. *Biochimie*. 91(6):671-678.
- BATTIN TJ, KAPLAN LA, NEWBOLD JD, HANSEN CME. 2003. Contributions of microbial biofilms to ecosystem processes in stream mesocosms. *Nature*. 426(6965):439-442.
- BAYNE BL. 1963. Responses of *Mytilus edulis* larvae to increases in hydrostatic pressure. *Nature*. 198:406-407.
- BAYNE BL. 1964a. Primary and secondary settlement in *Mytilus edulis* L. (Mollusca). *Journal of Animal Ecology*. 33:513-523.
- BAYNE BL. 1964b. The responses of the larvae of *Mytilus edulis* L. to light and to gravity. *Oikos*. 15(1):162-174.
- BAYNE BL. 1965. Growth and the delay of metamorphosis of the larvae of *Mytilus edulis* (L.). *Ophelia*. 2(1):1-47.
- BAYNE BL. 1971. Some morphological changes that occur at the metamorphosis of the larvae of *Mytilus edulis*. *Proceedings of the Proc. 4th Eur. Mar. Biol. Symp., Bangor, U.K., 1969; 1971; DJ Crisp ed.: Cambridge University Press, London*.
- BAYNE BL. 1976. The biology of mussel larvae. In: *Marine mussels: their ecology and physiology*. BL Bayne ed. Cambridge: Cambridge University Press. p. 81-120.
- BAYNE BL. 1983. Physiological ecology of marine molluscan larvae. In: *The Mollusca*. KM Wilbur ed. New York: Academic Press. p. 299-343.

BAYNE BL, GABBOT PA, WIDDOWS J. 1975. Some effects of stress in the adult on the eggs and larvae of *Mytilus edulis* L. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. 55:675-689.

BAYNE BL, HOLLAND DL, MOORE MN, LOWE DM, WIDDOWS J. 1978. Further studies on the effects of stress in the adult on the eggs of *Mytilus edulis*. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. 58:825-841.

BEAUGRAND G, BRANDER KM, LINDLEY JA, SOUISSI S, REID PC. 2003. Plankton effect on cod recruitment in the North Sea. Nature. 426(6967):661-664.

BEAUMONT AR, BUDD MD. 1982. Delayed growth of mussel (*Mytilus edulis*) and scallop (*Pecten maximus*) veligers at low temperatures. Marine Biology. 71:97-100.

BEC A, MARTIN-CREUZBURG D, VON ELERT E. 2010. Fatty acid composition of the heterotrophic nanoflagellate *Paraphysomonas* sp.: influence of diet and de novo biosynthesis. Aquatic Biology. 9(2):107-112.

BEC B, HUSSEINI-RATREMA J, COLLOS Y, SOUCHU P, VAQUER A. 2005. Phytoplankton seasonal dynamics in a Mediterranean coastal lagoon: emphasis on the picoeukaryote community. Journal of Plankton Research. 27(9):881-894.

BECK K, NEVES RJ. 2003. An evaluation of selective feeding by three age-groups of the rainbow mussel *Villosa iris*. North American Journal of Aquaculture. 65(3):203-209.

BELL MV, TOCHER DR. 2008. Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in aquatic ecosystems: general pathways and new directions. In: Lipids in aquatic ecosystems. MT Arts, Brett MT, Kainz M ed. New York: Springer Verlag. p. 211-236.

BELLINGER BJ, ABDULLAHI AS, GRETZ MR, UNDERWOOD GJC. 2005. Biofilm polymers: relationship between carbohydrate biopolymers from estuarine mudflats and unialgal cultures of benthic diatoms. Aquatic Microbial Ecology. 38(2):169-180.

BELZILE C, BRUGEL S, NOZAIS C, GRATTON Y, DEMERS S. 2008. Variations of the abundance and nucleic acid content of heterotrophic bacteria in Beaufort Shelf waters during winter and spring. Journal of Marine Systems. 74(3-4):946-956.

BEN KHEDER R, MOAL J, ROBERT R. 2010a. Impact of temperature on larval development and evolution of physiological indices in *Crassostrea gigas*. Aquaculture. 309(1-4):286-289.

BEN KHEDER R, QUERE C, MOAL J, ROBERT R. 2010b. Effect of nutrition on *Crassostrea gigas* larval development and the evolution of physiological indices. Part A: Quantitative and qualitative diet effects. *Aquaculture*. 305(1-4):165-173.

BENGTSSON MM, OVREAS L. 2010. Planctomycetes dominate biofilms on surfaces of the kelp *Laminaria hyperborea*. *BMC Microbiology*. 10.

BENINGER PG, DWIONO SAP, LEPENNEC M. 1994. Early development of the gill and implications for feeding in *Pecten maximus* (Bivalvia: Pectinidae). *Marine Biology*. 119(3):405-412.

BERGÉ J-P, BARNATHAN G. 2005. Fatty acids from lipids of marine organisms: molecular biodiversity, roles as biomarkers, biologically active compounds, and economical aspects. In: *Marine Biotechnology I*. R Ulber, Le Gal Y ed.: Springer Berlin / Heidelberg. p. 49-125.

BERGLUND J, MUREN U, BAMSTEDT U, ANDERSSON A. 2007. Efficiency of a phytoplankton-based and a bacteria-based food web in a pelagic marine system. *Limnology and Oceanography*. 52(1):121-131.

BERTNESS MD, GAINES SD, WAHLE RA. 1996. Wind driven settlement patterns in the acorn barnacle *Semibalanus balanoides*. *Marine Ecology Progress Series*. 137(1-3):103-110.

BEUKEMA JJ, DE VLAS J. 1989. Tidal-current transport of thread-drifting postlarval juveniles of the bivalve *Macoma balthica* from the Wadden Sea to the North Sea. *Marine Ecology Progress Series*. 52(2):193-200.

BHASKAR PV, BHOSLE NB. 2006. Bacterial extracellular polymeric substance (EPS): A carrier of heavy metals in the marine food-chain. *Environment International*. 32(2):191-198.

BIANDOLINO F, PRATO E, CAROPPO C. 2008. Preliminary investigation on the phytoplankton contribution to the mussel diet on the basis of fatty acids analysis. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 88(5):1009-1017.

BISHOP CD, HUGGETT MJ, HEYLAND A, HODIN J, BRANDHORST BP. 2006a. Interspecific variation in metamorphic competence in marine invertebrates: the significance for comparative investigations into the timing of metamorphosis. *Integrative and Comparative Biology*. 46(6):662-682.

BISHOP CD, EREZYILMAZ DF, FLATT T, GEORGIOU CD, HADFIELD MG, HEYLAND A, HODIN J, JACOBS MW, MASLAKOVA SA, PIRES A, et al. 2006b. What is metamorphosis? Integrative and Comparative Biology. 46(6):655-661.

BOS OG, PHILIPPART CJM, VAN DER MEER J. 2007. Effects of temporary food limitation on development and mortality of *Macoma balthica* larvae. Marine Ecology Progress Series. 330:155-162.

BOS OG, PHILIPPART CJM, CADEE GC, VAN DER MEER J. 2006a. Recruitment variation in *Macoma balthica*: a laboratory examination of the match/mismatch hypothesis. Marine Ecology Progress Series. 320:207-214.

BOS OG, HENDRIKS IE, STRASSER M, DOLMER P, KAMERMANS P. 2006b. Estimation of food limitation of bivalve larvae in coastal waters of north-western Europe. Journal of Sea Research. 55(3):191-206.

BOTELLO G, KRUG PJ. 2006. 'Desperate larvae' revisited: age, energy and experience affect sensitivity to settlement cues in larvae of the gastropod *Alderia sp.* Marine Ecology Progress Series. 312:149-159.

BOURGET E, HARVEY M. 1998. Spatial analysis of recruitment of marine invertebrates on arborescent substrata. Biofouling. 12(1-3):45-55.

BOURGET E, DEGUISE J, DAIGLE G. 1994. Scales of substratum heterogeneity, structural complexity, and the early establishment of marine epibenthic community. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 181(1):31-51.

BOURQUE F, MYRAND B. 2007. Essais de stratégies pour contrer l'effet négatif des algues sur la collecte de moules au bassin du Havre Aubert. MAPAQ, DIT. Rapport de R-D n° 157. 13 p.

BOURQUE F, MYRAND B, ROUSSY M. 2004. Sécurisation de l'approvisionnement en naissain pour la mytiliculture aux Îles-de-la-Madeleine : État et dynamique des gisements de moules (*Mytilus edulis*) du bassin de Havre-Aubert de 1997-2001. MAPAQ. Cahier d'information n° 148. 38 p.

BOWNES SJ, MCQUAID CD. 2009. Mechanisms of habitat segregation between an invasive and an indigenous mussel: settlement, post-settlement mortality and recruitment. Marine Biology. 156(5):991-1006.

BRETT MT, MULLER-NAVARRA DC. 1997. The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic food web processes. *Freshwater Biology*. 38(3):483-499.

BRUNO JF, STACHOWICZ JJ, BERTNESS MD. 2003. Inclusion of facilitation into ecological theory. *Trends in Ecology & Evolution*. 18(3):119-125.

BUDGE SM, PARRISH CC. 1998. Lipid biogeochemistry of plankton, settling matter and sediments in Trinity Bay, Newfoundland. II. Fatty acids. *Organic Geochemistry*. 29(5-7):1547-1559.

BUDGE SM, PARRISH CC, MCKENZIE CH. 2001. Fatty acid composition of phytoplankton, settling particulate matter and sediments at a sheltered bivalve aquaculture site. *Marine Chemistry*. 76(4):285-303.

BURGESS SC, HART SP, MARSHALL DJ. 2009. Pre-Settlement Behavior in Larval Bryozoans: The Roles of Larval Age and Size. *Biological Bulletin*. 216(3):344-354.

BUTCHER RW. 1952. Contributions to our knowledge of the smaller marine algae. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 31:175-191.

BUTMAN CA. 1987. Larval settlement of soft-sediment invertebrates: the spatial scale of pattern explained by active habitat selection and the emerging role of hydrodynamical processes. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev*. 25:113-165.

CACERES-MARTINEZ J, ROBLEDO JAF, FIGUERAS A. 1994. Settlement and post-larvae behaviour of *Mytilus galloprovincialis* : field and laboratory experiments. *Marine Ecology Progress Series*. 112:102-117.

CADDY JF. 1969. Development of mantle organs, feeding, and locomotion in postlarval *Macoma balthica* (L.) (Lamellibranchiata). *Canadian Journal of Zoology*. 47:609-617.

CALEY MJ, CARR MH, HIXON MA, HUGHES TP, JONES GP, MENGE BA. 1996. Recruitment and the local dynamics of open marine populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 27:477-500.

CAMPBELL AH, MERITT DW, FRANKLIN RB, BOONE EL, NICELY CT, BROWN BL. 2011. Effects of age and composition of field-produced biofilms on oyster larval setting. *Biofouling*. 27(3):255-265.

CANNUEL R, BENINGER PG, MCCOMBIE H, BOUDRY P. 2009. Gill development and its functional and evolutionary implications in the blue mussel *Mytilus edulis* (Bivalvia: Mytilidae). *Biological Bulletin*. 217(2):173-188.

CARDOL P, BAILLEUL B, RAPPAPORT F, DERELLE E, BEAL D, BREYTON C, BAILEY S, WOLLMAN FA, GROSSMAN A, MOREAU H, et al. 2008. An original adaptation of photosynthesis in the marine green alga *Ostreococcus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 105(22):7881-7886.

CARRIKER MR. 1961. Interrelation of functional morphology, behaviour, and autoecology in early stages of the bivalve *Mercenaria mercenaria*. *Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society*. 77:168-241.

CHANLEY PE, ANDREWS JD. 1971. Aids for identification of bivalve larvae of Virginia. *Malacologia*. 11(1):45-119.

CHIU JMY, THIYAGARAJAN V, PECHENIK JA, HUNG OS, QIAN PY. 2007. Influence of bacteria and diatoms in biofilms on metamorphosis of the marine slipper limpet *Crepidula onyx*. *Marine Biology*. 151(4):1417-1431.

CHRETIENNOT-DINET MJ, COURTIES C, VAQUER A, NEVEUX J, CLAUSTRE H, LAUTIER J, MACHADO MC. 1995. A new marine picoeucaryote: *Ostreococcus tauri* gen et sp-nov (Chlorophyta, Prasinophyceae). *Phycologia*. 34(4):285-292.

CHU FLE, LUND ED, PODBESEK JA. 2008. Quantitative significance of n-3 essential fatty acid contribution by heterotrophic protists in marine pelagic food webs. *Marine Ecology Progress Series*. 354:85-95.

CLARE AS. 1996. Natural product antifoulants: Status and potential. *Biofouling*. 9(3):211-229.

CLARKE KR. 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology*. 18:117-143.

CLARKE KR, GORLEY RRN. 2006. PRIMER v6: User manual/Tutorial. In: Plymouth, UK.

COELHO H, DA SILVA TL, REIS A, QUEIROGA H, SERODIO J, CALADO R. 2011. Fatty acid profiles indicate the habitat of mud snails *Hydrobia ulvae* within the same

estuary: Mudflats vs. seagrass meadows. *Estuarine Coastal and Shelf Science*. 92(1):181-187.

COLAÇO A, PRIETO C, MARTINS A, FIGUEIREDO M, LAFON V, MONTEIRO M, BANDARRA NM. 2009. Seasonal variations in lipid composition of the hydrothermal vent mussel *Bathymodiolus azoricus* from the Menez Gwen vent field. *Marine Environmental Research*. 67(3):146-152.

COLE JR, CHAI B, FARRIS RJ, WANG Q, KULAM-SYED-MOHIDEEN AS, MCGARRELL DM, BANDELA AM, CARDENAS E, GARRITY GM, TIEDJE JM. 2007. The ribosomal database project (RDP-II): introducing myRDP space and quality controlled public data. *Nucleic Acids Research*. 35:D169-D172.

COOPER K. 1982. A model to explain the induction of settlement and metamorphosis of planktonic eyed-pediveligers of the blue mussel *Mytilus edulis* L. by chemical and tactile cues. *Journal of Shellfish Research*. 2(1):117.

COURTIES C, VAQUER A, TROUSSELLIER M, LAUTIER J, CHRETIENNOT-DINET MJ, NEVEUX J, MACHADO C, CLAUSTRE H. 1994. Smallest eukaryotic organisms. *Nature*. 370(6487):255-255.

COURTRIGHT RC, BREESE WP, KRUEGER H. 1971. Formulation of a synthetic seawater for bioassays with *Mytilus edulis* embryos. *Water Research*. 5:877-888.

CRIPPS GC, ATKINSON A. 2000. Fatty acid composition as an indicator of carnivory in Antarctic krill, *Euphausia superba*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 57:31-37.

CRIPPS GC, WATKINS JL, HILL HJ, ATKINSON A. 1999. Fatty acid content of Antarctic krill *Euphausia superba* at South Georgia related to regional populations and variations in diet. *Marine Ecology Progress Series*. 181:177-188.

CRISP DJ. 1974. Factor influencing the settlement of marine invertebrate larvae. In: Chemoreception in marine organisms. PT Grant, Mackie AM ed. London: Academic Press. p. 177-245.

CUMMINGS VJ, PRIDMORE RD, THRUSH SF, HEWITT JE. 1993. Emergence and floating behaviors of postsettlement juveniles of *Macomona liliana* (bivalvia, Tellinacea). *Marine Behaviour and Physiology*. 24(1):25-32.

CUNNANE SC. 2000. The conditional nature of the dietary need for polyunsaturates: a proposal to reclassify 'essential fatty acids' as 'conditionally-indispensable' or conditionally-dispensable' fatty acids. *British Journal of Nutrition*. 84(6):803-812.

CUNNANE SC. 2003. Problems with essential fatty acids: time for a new paradigm? *Progress in Lipid Research*. 42(6):544-568.

CUSHING DH. 1972. The production cycle and the numbers of marine fish. *Symposia of the Zoological Society of London*. 29:213-232.

CUSHING DH. 1990. Plankton production and year-class strength in fish populations - An update of the match/mismatch hypothesis. *Advances in Marine Biology*. 26:249-293.

CUSHING DH, HARRIS JCK. 1973. Stock and recruitment and the problem of density dependence. *Rapp P-v Reun Cons Perm Int Explor Mer*. 164:142-155.

CUSHING DH, HORWOOD JW. 1994. The growth and death of fish larvae. *Journal of Plankton Research*. 16:291-300.

DAHMS HU, HARDER T, QIAN PY. 2007. Selective attraction and reproductive performance of a harpacticoid copepod in a response to biofilms. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 341(2):228-238.

DALSGAARD J, ST JOHN M, KATTNER G, MULLER-NAVARRA D, HAGEN W. 2003. Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment. *Advances in Marine Biology*. 46:225-340.

DANG HY, LOVELL CR. 2000. Bacterial primary colonization and early succession on surfaces in marine waters as determined by amplified rRNA gene restriction analysis and sequence analysis of 16S rRNA genes. *Applied and Environmental Microbiology*. 66(2):467-475.

DANG HY, LI TG, CHEN MN, HUANG GQ. 2008. Cross-Ocean distribution of Rhodobacterales bacteria as primary surface colonizers in temperate coastal marine waters. *Applied and Environmental Microbiology*. 74(1):52-60.

DAS UN. 2006. Essential fatty acids - A review. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 7(6):467-482.

DAVENPORT J, SMITH R, PACKER M. 2000. *Mussels Mytilus edulis*: significant consumers and destroyers of mesozooplankton. Marine Ecology Progress Series. 198:131-137.

DAY R, MCEDWARDS L. 1984. Aspects of the physiology and ecology of pelagic larvae of marine benthic invertebrates. In: Marine plankton life cycle strategies. KA Steidinger, Walker LM ed. Boca Raton, Florida: CRC Press. p. 93-120.

DE BLOK JW, TAN-MAAS M. 1976. The dispersal of young postlarval *Mytilus*. Nature. 267:558.

DE MONTAUDOUIN X. 1997. Potential of bivalves' secondary settlement differs with species: A comparison between cockle (*Cerastoderma edule*) and clam (*Ruditapes philippinarum*) juvenile resuspension. Marine Biology. 128(4):639-648.

DE MORENO JEA, MORENO VJ, BRENNER KR. 1976. Lipid metabolism of the yellow clam, *Mesodesma matroides*: 2. Polyunsaturated fatty acid metabolism. Lipids. 11:561-566.

DECHO AW. 1990. Microbial exopolymer secretions in ocean environments: their role(s) in food webs and marine processes. Oceanography and Marine Biology. 28:73-153.

DELAPORTE M, SOUDANT P, MOAL J, KRAFFE E, MARTY Y, SAMAIN JF. 2005. Incorporation and modification of dietary fatty acids in gill polar lipids by two bivalve species *Crassostrea gigas* and *Ruditapes philippinarum*. Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology. 140(4):460-470.

DELAPORTE M, SOUDANT P, MOAL J, GIUDICELLI E, LAMBERT C, SEGUINEAU C, SAMAIN JF. 2006. Impact of 20 : 4n-6 supplementation on the fatty acid composition and hemocyte parameters of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Lipids. 41(6):567-576.

DELAUNAY F, MARTY Y, MOAL J, SAMAIN JF. 1992. Growth and lipid class composition of *Pecten maximus* larvae grown under hatchery conditions. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 163(2):209-219.

DELAUNAY F, MARTY Y, MOAL J, SAMAIN JF. 1993. The effect of monospecific algal diets on growth and fatty acid composition of *Pecten maximus* (L.) larvae. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 173(2):163-179.

DESAI DV, ANIL AC. 2005. Recruitment of the barnacle *Balanus amphitrite* in a tropical estuary: implications of environmental perturbation, reproduction and larval ecology. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 85(4):909-920.

DESVILETTES C, BOURDIER G, AMBLARD C, BARTH B. 1997. Use of fatty acids for the assessment of zooplankton grazing on bacteria, protozoans and microalgae. *Freshwater Biology*. 38(3):629-637.

DIEZ B, PEDROS-ALIO C, MASSANA R. 2001. Study of genetic diversity of eukaryotic picoplankton in different oceanic regions by small-subunit rRNA gene cloning and sequencing. *Applied and Environmental Microbiology*. 67(7):2932-2941.

DOBRETISOV S, WAHL M. 2008. Larval recruitment of the blue mussel *Mytilus edulis*: The effect of flow and algae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 355(2):137-144.

DOBRETISOV S, DAHMS HU, QIAN PY. 2006. Inhibition of biofouling by marine microorganisms and their metabolites. *Biofouling*. 22(1):43-54.

DOBRETISOV S, TEPLITSKI M, PAUL V. 2009. Mini-review: quorum sensing in the marine environment and its relationship to biofouling. *Biofouling*. 25(5):413 - 427.

DOBRETISOV SV. 1999. Effects of macroalgae and biofilm on settlement of blue mussel (*Mytilus edulis* L.) larvae. *Biofouling*. 14(2):153-165.

DOBRETISOV SV, RAILKIN AI. 1996. Effects of substrate features on settling and attachment of larvae in blue mussel *Mytilus edulis* (Mollusca, Filibranchia). *Zoologicheskoy Zhurnal*. 75(4):499-506.

DOBRETISOV SV, WAHL M. 2001. Recruitment preferences of blue mussel spat (*Mytilus edulis*) for different substrata and microhabitats in the White sea (Russia). *Hydrobiologia*. 445:27-35.

DOBRETISOV SV, MIRON G. 2001. Larval and post-larval vertical distribution of the mussel *Mytilus edulis* in the White sea. *Marine Ecology Progress Series*. 218:179-187.

DOBRETISOV SV, QIAN PY. 2003. Pharmacological induction of larval settlement and metamorphosis in the blue mussel *Mytilus edulis* L. *Biofouling*. 19(1):57-63.

DOBRETISOV SV, XIONG H, XU Y, LEVIN LA, QIAN PY. 2007. Novel antifoulants: inhibition of larval attachment by proteases. *Marine Biotechnology*. 9:388-397.

DUPUY C, VAQUER A, LAM-HOAI T, ROUGIER C, MAZOUNI N, LAUTIER J, COLLOS Y, LE GALL S. 2000. Feeding rate of the oyster *Crassostrea gigas* in a natural planktonic community of the Mediterranean Thau Lagoon. *Marine Ecology Progress Series*. 205:171-184.

DURANT JM, STENSETH NC, HJERMANN DO. 2006. Ecosystem tests of the match-mismatch hypothesis. *Journal of Ornithology*. 147(5):160-160.

DURANT JM, HJERMANN DO, OTTERSEN G, STENSETH NC. 2007. Climate and the match or mismatch between predator requirements and resource availability. *Climate Research*. 33(3):271-283.

DURANT JM, HJERMANN DO, ANKER-NILSSEN T, BEAUGRAND G, MYSTERUD A, PETTORELLI N, STENSETH NC. 2005. Timing and abundance as key mechanisms affecting trophic interactions in variable environments. *Ecology Letters*. 8(9):952-958.

ECKMAN JE. 1983. Hydrodynamic processes affecting benthic recruitment. *Limnology and Oceanography*. 28:241-257.

EDWARDS M, RICHARDSON AJ. 2004. Impact of climate change on marine pelagic phenology and trophic mismatch. *Nature*. 430(7002):881-884.

ENRIGHT CT, NEWKIRK GF, CRAIGIE JS, CASTELL JD. 1986a. Growth of juvenile *Ostrea edulis* L. fed *Chaetoceros gracilis* Schütt of varied chemical composition. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 96(1):15-26.

ENRIGHT CT, NEWKIRK GF, CRAIGIE JS, CASTELL JD. 1986b. Evaluation of phytoplankton as diets for juvenile *Ostrea edulis* L. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 96(1):1-13.

ERLANDSSON J, MCQUAID CD. 2004. Spatial structure of recruitment in the mussel *Perna perna* at local scales: effects of adults, algae and recruit size. *Marine Ecology Progress Series*. 267:173-185.

ERLANDSSON J, MCQUAID CD, KOSTYLEV VE. 2005. Contrasting spatial heterogeneity of sessile organisms within mussel (*Perna perna* L.) beds in relation to

topographic variability. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 314(1):79-97.

ERLANDSSON J, PORRI F, MCQUAID CD. 2008. Ontogenetic changes in small-scale movement by recruits of an exploited mussel: implications for the fate of larvae settling on algae. *Marine Biology*. 153(3):365-373.

EYSTER LS, PECHENIK JA. 1987. Attachment of *Mytilus edulis* L. larvae on algal and byssal filaments is enhanced by water agitation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 114:99-110.

FAHL K, KATTNER G. 1993. Lipid-content and fatty-acid composition of algal communities in sea-ice and water from the Weddell sea (Antartica). *Polar Biology*. 13(6):405-409.

FALK-PETERSEN S, SARGENT JR, HENDERSON J, HEGSETH EN, HOP H, OKOLODKOV YB. 1998. Lipids and fatty acids in ice algae and phytoplankton from the Marginal Ice Zone in the Barents Sea. *Polar Biology*. 20(1):41-47.

FALK-PETERSEN S, DAHL TM, SCOTT CL, SARGENT JR, GULLIKSEN B, KWASNIEWSKI S, HOP H, MILLAR RM. 2002. Lipid biomarkers and trophic linkages between ctenophores and copepods in Svalbard waters. *Marine Ecology Progress Series*. 227:187-194.

FARIAS A, BELL JG, URIARTE I, SARGENT JR. 2003. Polyunsaturated fatty acids in total lipid and phospholipids of chilean scallop *Argopecten purpuratus* (L.) larvae: effects of diet and temperature. *Aquaculture*. 228(1-4):289-305.

FELL PE, BALSAMO AM. 1985. Recruitment of *Mytilus edulis* L. in the Thames estuary, with evidence for differences in the time of maximal settling along the Connecticut shore. *Estuaries*. 8(1):68-75.

FERNANDEZ-REIRIZ MJ, LABARTA U, ALBENTOSA M, PEREZ-CAMACHO A. 1999. Lipid profile and growth of the clam spat, *Ruditapes decussatus* (L), fed with microalgal diets and cornstarch. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*. 124(3):309-318.

FLYACHINSKAYA LP, KULAKOVSKIY EY. 1992. Larval development of the bivalve *Mytilus edulis* (Mytilida, Mytilidae). *Hydrobiologia*. 28:59-66.

- FORTIER L, GAGNE JA. 1990. Larval Herring (*Clupea harengus*) dispersion, growth, and survival in the St-Lawrence estuary: Match/mismatch or membership vagrancy. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 47(10):1898-1912.
- FOUILLAND E, DESCOLAS-GROS C, COURTIES C, COLLOS Y, VAQUER A, GASC A. 2004. Productivity and growth of a natural population of the smallest free-living eukaryote under nitrogen deficiency and sufficiency. Microbial Ecology. 48(1):103-110.
- FOULON E, NOT F, JALABERT F, CARIOU T, MASSANA R, SIMON N. 2008. Ecological niche partitioning in the picoplanktonic green alga *Micromonas pusilla*: evidence from environmental surveys using phylogenetic probes. Environmental Microbiology. 10(9):2433-2443.
- FRASER AJ. 1989. Triacylglycerol content as a condition index of fish, bivalve, and crustacean larvae. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 46(11):1868-1873.
- FRECHETTE M, LEFAIVRE D. 1995. On self-thinning animals. Oikos. 73(3):425-428.
- FRECHETTE M, LACHANCE-BERNARD M, DAIGLE G. 2010. Body size, population density and factors regulating suspension-cultured blue mussel (*Mytilus* spp.) populations. Aquatic Living Resources. 23(3):247-254.
- FREITES L, LABARTA U, FERNANDEZ-REIRIZ MJ. 2002a. Evolution of fatty acid profiles of subtidal and rocky shore mussel seed (*Mytilus galloprovincialis*, Lmk.). Influence of environmental parameters. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 268(2):185-204.
- FREITES L, FERNANDEZ-REIRIZ MJ, LABARTA U. 2002b. Fatty acid profiles of *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) mussel of subtidal and rocky shore origin. Comparative Biochemistry and Physiology Part B Biochemistry & Molecular Biology. 132(2):453-461.
- FUERST JA. 1995. The planctomycetes: emerging models for microbial ecology, evolution and cell biology. Microbiology-Uk. 141:1493-1506.
- FUERST JA, SAGULENKO E. 2011. Beyond the bacterium: planctomycetes challenge our concepts of microbial structure and function. Nature Reviews Microbiology. 9(6):403-413.
- FULLER SC, LUTZ RA. 1988. Early shell mineralogy, microstructure, and surface sculpture in five mytilid species. Malacologia. 29:363-371.

FUSETANI N. 2004. Biofouling and antifouling. Natural Product Reports. 21(1):94-104.

GAGNÉ R, TREMBLAY R, PERNET F, MINER P, SAMAIN JF, OLIVIER F. 2010. Lipid requirements of the scallop *Pecten maximus* (L.) during larval and post-larval development in relation to addition of *Rhodomonas sauna* in diet. Aquaculture. 309(1-4):212-221.

GAINES S, ROUGHGARDEN J. 1985. Larval settlement rate: A leading determinant of structure in an ecological community of the marine intertidal zone. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 82(11):3707-3711.

GAINES SD, BERTNESS MD. 1992. Dispersal of juveniles and variable recruitment in sessile marine species. Nature. 360(6404):579-580.

GALAND PE, LOVEJOY C, POULIOT J, GARNEAU ME, VINCENT WF. 2008. Microbial community diversity and heterotrophic production in a coastal Arctic ecosystem: A stamukhi lake and its source waters. Limnology and Oceanography. 53(2):813-823.

GALAP C, NETCHITAILO P, LEBOULENGER F, GRILLOT JP. 1999. Variations of fatty acid contents in selected tissues of the female dog cockle (*Glycymeris glycymeris* L., Mollusca, Bivalvia) during the annual cycle. Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology. 122(2):241-254.

GALLAGER SM, MANN R, SASAKI GC. 1986. Lipid as an index of growth and viability in three species of bivalve larvae. Aquaculture. 56:81-103.

GANESAN AM, ALFARO AC, BROOKS JD, HIGGINS CM. 2010. The role of bacterial biofilms and exudates on the settlement of mussel (*Perna canaliculus*) larvae. Aquaculture. 306(1-4):388-392.

GARCIA-ESQUIVEL Z, BRICELJ VM. 1993. Ontogenic changes in microhabitat distribution of juvenile bay scallops, *Argopecten irradians irradians* (L), in eelgrass beds, and their potential significance to early recruitment. Biological Bulletin. 185(1):42-55.

GAST V. 1985. Bacteria as a food source for microzooplankton in the Schlei Fjord and Baltic Sea with special reference to ciliates. Marine Ecology Progress Series. 22:107-120.

GATENBY CM, NEVES RJ, PARKER BC. 1996. Influence of sediment and algal food on cultured juvenile freshwater mussels. Journal of the North American Benthological Society. 15(4):597-609.

GATENBY CM, PARKER BC, NEVES RJ. 1997. Growth and survival of juvenile rainbow mussels, *Villosa iris* (Lea, 1829) (Bivalvia : Unionidae), reared on algal diets and sediment. *American Malacological Bulletin*. 14(1):57-66.

GIBSON G. 1995. Why be choosy? Temporal changes in larval sensitivity to several naturally-occurring metamorphic inducers in the opisthobranch *Haminaea callidegenita*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 194(1):9-24.

GILABERT J. 2001. Seasonal plankton dynamics in a Mediterranean hypersaline coastal lagoon: the Mar Menor. *Journal of Plankton Research*. 23(2):207-217.

GLENCROSS BD. 2009. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Reviews in Aquaculture*. 1(2):71-124.

GOSSELIN LA, QIAN PY. 1996. Early post-settlement mortality of an intertidal barnacle: A critical period for survival. *Marine Ecology Progress Series*. 135(1-3):69-75.

GOSSELIN LA, QIAN PY. 1997. Juvenile mortality in benthic marine invertebrates. *Marine Ecology Progress Series*. 146(1-3):265-282.

GOTCEITAS V, PUVANENDRAN V, LEADER LL, BROWN JA. 1996. An experimental investigation of the 'match mismatch' hypothesis using larval Atlantic cod. *Marine Ecology Progress Series*. 130(1-3):29-37.

GRAEVE M, KATTNER G, HAGEN W. 1994a. Diet induced changes in the fatty acid composition of Arctic herbivorous copepods: evidence of trophic markers. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 182(1):97-110.

GRAEVE M, HAGEN W, KATTNER G. 1994b. Herbivorous or omnivorous: on the significance of lipid compositions as trophic markers in Antarctic copepods. *Deep-Sea Research Part I-Oceanographic Research Papers*. 41(5-6):915-924.

GRAEVE M, KATTNER G, PIEPENBURG D. 1997. Lipids in Arctic benthos: Does the fatty acid and alcohol composition reflect feeding and trophic interactions? *Polar Biology*. 18(1):53-61.

GRAEVE M, DAUBY P, SCAILTEUR Y. 2001. Combined lipid, fatty acid and digestive tract content analyses: a penetrating approach to estimate feeding modes of Antarctic amphipods. *Polar Biology*. 24(11):853-862.

GRAF G. 1992. Benthic-pelagic coupling: a benthic view. *Oceanography and Marine Biology*. 30:149-190.

GRAY JP, HERWIG RP. 1996. Phylogenetic analysis of the bacterial communities in marine sediments. *Applied and Environmental Microbiology*. 62(11):4049-4059.

GUEST JR, BAIRD AH, GOH BPL, CHOU LM. 2005. Reproductive seasonality in an equatorial assemblage of scleractinian corals. *Coral Reefs*. 24(1):112-116.

GÜNTHER CP. 1992. Dispersal of intertidal invertebrates: a strategy to react to disturbances of different scales. *Netherlands Journal of Sea Research*. 30:45-56.

HADFIELD MG. 2011. Biofilms and marine invertebrate larvae: what bacteria produce that larvae use to choose settlement sites. *Annual Review of Marine Science*. 3:453-470.

HALL SJ. 1994. Physical disturbance and marine benthic communities: life in unconsolidated sediments. *Oceanography and Marine Biology*, Vol 32. 32:179-239.

HARDEN-JONES FR. 1968. Fish migration. London, U.K.: Edwards Arnoldp.

HARII S, NADAOKA K, YAMAMOTO M, IWAOKA K. 2007. Temporal changes in settlement, lipid content and lipid composition of larvae of the spawning hermatypic coral *Acropora tenuis*. *Marine Ecology Progress Series*. 346:89-96.

HARVEY M, BOURGET E. 1997. Recruitment of marine invertebrates onto arborescent epibenthic structures: active and passive processes acting at different spatial scales. *Marine Ecology Progress Series*. 153:203-215.

HAZEL JR. 1995. Thermal adaptation in biological-membranes: Is homeoviscous adaptation the explanation. *Annual Review of Physiology*. 57:19-42.

HELM MM, BOURNE N, LOVATELLI A. 2006. The hatchery culture of bivalves: a practical manual. FAO ed. Romep.

HENDRIKS L, DEBAERE R, VANDEPEER Y, NEEFS J, GORIS A, DEWACHTER R. 1991. The evolutionary position of the rhodophyte *Porphyra umbilicalis* and the basidiomycete *Leucosporidium scottii* among other eukaryotes as deduces from complete sequences of small ribosomal subunit RNA. *Journal of Molecular Evolution*. 32(2):167-177.

HEYDORN A, NIELSEN AT, HENTZER M, STERNBERG C, GIVSKOV M, ERSBOLL BK, MOLIN S. 2000. Quantification of biofilm structures by the novel computer program COMSTAT. *Microbiology-Uk*. 146:2395-2407.

HJORT J. 1914. Fluctuation in the great fisheries in northern Europe reviewed in the light of biological research. *Rapports et Procès-Verbaux des Réunions du Conseil International pour l'Exploration de la Mer*. 20:1-128.

HOLLAND DL. 1978. Lipid reserves and energy metabolism in the larvae of benthic marine invertebrates. In: *Biochemical and biophysical perspectives in marine biology*. Volume 4. DC Malins, Sargent JR ed.

HOLLAND DL, SPENCER BE. 1973. Biochemical changes in fed and starved oysters, *Ostrea edulis* L. during larval development, metamorphosis and early spat growth. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 53:287-298.

HOLMSTROM C, KJELLEBERG S. 1994. The effect of external biological factors on settlement of marine invertebrate and new antifouling technology. *Biofouling*. 8(2):147-160.

HOWARD RW, STANLEY DW. 1999. The tie that binds: Eicosanoids in invertebrate biology. *Annals of the Entomological Society of America*. 92(6):880-890.

HOWELL KL, POND DW, BILLET DSM, TYLER PA. 2003. Feeding ecology of deep-sea seastars (Echinodermata : Asteroidea): a fatty-acid biomarker approach. *Marine Ecology Progress Series*. 255:193-206.

HRS-BRENKO M, CALABRESE A. 1969. The combined effects of salinity and temperature on larvae of the mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology*. 4(3):224-226.

HUDON C, BOURGET E. 1981. Initial colonization of artificial substrate: community development and structure studied by scanning electron microscopy. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 38(11):1371-1384.

HUGHES TP. 1990. Recruitment limitation, mortality, and population regulation in open systems: a case-study. *Ecology*. 71(1):12-20.

HUGHES TP, BAIRD AH, DINSDALE EA, MOLTSCHANIWSKYJ NA, PRATCHETT MS, TANNER JE, WILLIS BL. 2000. Supply-side ecology works both ways: The link between benthic adults, fecundity, and larval recruits. *Ecology*. 81(8):2241-2249.

HULBERT AJ, ELSE PL. 1999. Membranes as Possible Pacemakers of Metabolism. *Journal of Theoretical Biology*. 199(3):257-274.

HULBERT AJ, ELSE PL. 2005. Membranes and the setting of energy demand. *Journal of Experimental Biology*. 208(9):1593-1599.

HUNT HL, SCHEIBLING RE. 1996. Physical and biological factors influencing mussel (*Mytilus trossulus*, *M. edulis*) settlement on a wave-exposed rocky shore. *Marine Ecology Progress Series*. 142(1-3):135-145.

HUNT HL, SCHEIBLING RE. 1997. Role of early post-settlement mortality in recruitment of benthic marine invertebrates. *Marine Ecology Progress Series*. 155:269-301.

HUNT HL, SCHEIBLING RE. 1998. Spatial and temporal variability of patterns of colonization by mussels (*Mytilus trossulus*, *M-edulis*) on a wave-exposed rocky shore. *Marine Ecology Progress Series*. 167:155-169.

HURTADO MA, REZA M, IBARRA AM, WILLE M, SORGELOOS P, SOUDANT P, PALACIOS E. 2009. Arachidonic acid (20:4n-6) effect on reproduction, immunology, and prostaglandin E-2 levels in *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951). *Aquaculture*. 294(3-4):300-305.

ILES TD, SINCLAIR M. 1982. Atlantic herring: Stock discreteness and abundance. *Science*. 215(4533):627-633.

INCZE LS, LUTZ RA, WATLING L. 1980. Relationships between effects of environmental temperature and seston on growth and mortality of *Mytilus edulis* in a temperate Northern estuary. *Marine Biology*. 57:147-156.

INCZE LS, WHALE RA, PALMA AT. 2000. Advection and settlement rates in a benthic invertebrates: recruitment to first benthic stage in *Homarus americanus*. *ICES marine science*. 57:430-437.

INNES DJ, HALEY LE. 1977. Genetic aspects of larval growth under reduced salinity in *Mytilus edulis*. *Biological Bulletin*. 153:312-321.

INNIS SM. 2005. Essential fatty acid metabolism during early development. In: *Biology of metabolism in growing animals*. DG Brurrin, Mersmann HJ ed. Amsterdam: Elsevier. p. 235-274.

- IVERSON SJ, FIELD C, BOWEN WD, BLANCHARD W. 2004. Quantitative fatty acid signature analysis: A new method of estimating predator diets. *Ecological Monographs*. 74(2):211-235.
- JABLONSKI DJ, LUTZ RA. 1980. Molluscan larval shell morphology: ecological and paleoecological applications. In: *Skeletal growth of aquatic organisms*. DC Rhoads, Lutz RA ed. New York: Plenum Press. p. 323-377.
- JEFFRIES HP. 1970. Seasonal composition of temperate plankton communities: fatty acids. *Limnology and Oceanography*. 15(3):419-426.
- JESPERSEN H, OLSEN K. 1982. Bioenergetics in veliger larvae of *Mytilus edulis* L. *Ophelia*. 21(1):101-113.
- JOHNSON DL. 2000. Preliminary examination of the match-mismatch hypothesis and recruitment variability of yellowtail flounder, *Limanda ferruginea*. *Fishery Bulletin*. 98(4):854-863.
- JONES CG, LAWTON JH, SHACHAK M. 1994. Organisms as ecosystem engineers. *Oikos*. 69:373-386.
- JONES PR, COTTRELL MT, KIRCHMAN DL, DEXTER SC. 2007. Bacterial community structure of biofilms on artificial surfaces in an estuary. *Microbial Ecology*. 53(1):153-162.
- JONSSON PR, BERNTSSON KM, ANDRE C, WANGBERG SA. 1999. Larval growth and settlement of the European oyster (*Ostrea edulis*) as a function of food duality measured as fatty acid composition. *Marine Biology*. 134(3):559-570.
- JORGENSEN BC. 1981. Mortality, growth, and grazing impact of a cohort of bivalve larvae, *Mytilus edulis* L. *Ophelia*. 20(2):185-192.
- JOSEPH J. 1975. Identification of 3,6,9,12,15-octapentaenoic acid in laboratory-cultured photosynthetic dinoflagellates. *Lipids*. 10:395-403.
- JOSEPH JD. 1982. Lipid composition of marine and estuarine invertebrates. Part II: Mollusca. *Progress in Lipid Research*. 21(2):109-153.
- KAINZ M, ARTS MT, MAZUMDER A. 2004. Essential fatty acids in the planktonic food web and their ecological role for higher trophic levels. *Limnology and Oceanography*. 49(5):1784-1793.

- KATTNER G, ALBERS C, GRAEVE M, SCHNACK-SCHIEL SB. 2003. Fatty acid and alcohol composition of the small polar copepods, *Oithona* and *Oncaea*: indication on feeding modes. *Polar Biology*. 26(10):666-671.
- KEOUGH MJ. 1998. Responses of settling invertebrate larvae to the presence of established recruits. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 231(1):1-19.
- KEOUGH MJ, DOWNES BJ. 1982. Recruitment of marine invertebrates: the role of active larval choice and early mortality. *Oecologia*. 54(3):348-352.
- KEOUGH MJ, RAIMONDI PT. 1995. Responses of settling invertebrate larvae to bioorganic films: effects of different types of films. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 185(2):235-253.
- KEOUGH MJ, RAIMONDI PT. 1996. Responses of settling invertebrate larvae to bioorganic films: effects of large-scale variation in films. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 207(1-2):59-78.
- KHARLAMENKO VI, ZHUKOVA NV, KHOTIMCHENKO SV, SVETASHEV VI, KAMENEV GM. 1995. Fatty-acids as markers of food sources in a shallow-water hydrothermal ecosystem (Kraternaya Bight, Yankich Island, Kurile Islands). *Marine Ecology Progress Series*. 120(1-3):231-241.
- KING J. 1987. Ontogeny of feeding in juvenile *Panope abrupta*. M.Sc. Thesis. University of Victoria. 227 pp.
- KINGSFORD MJ, LEIS JM, SHANKS A, LINDEMAN KC, MORGAN SG, PINEDA J. 2002. Sensory environments, larval abilities and local self-recruitment. *Bulletin of Marine Science*. 70(1):309-340.
- KIRKHAM AR, JARDILLIER LE, HOLLAND R, ZUBKOV MV, SCANLAN DJ. 2011. Analysis of photosynthetic picoeukaryote community structure along an extended Ellett Line transect in the northern North Atlantic reveals a dominance of novel prymnesiophyte and prasinophyte phylotypes. *Deep-Sea Research Part I-Oceanographic Research Papers*. 58(7):733-744.
- KLINGENSMITH J. 1982. Distribution of methylene and nonmethylene-interrupted dienoic fatty acids in polar lipids and triacylglycerols of selected tissues of the hardshell clam (*Mercenaria mercenaria*). *Lipids*. 17(12):976-981.

- KNOX GA. 1986. Estuarine Ecosystems: A Systems Approach, vol. I. CRC Press. 198 p.
- KOUTITONSKY VG, BOOTH DA. 1996. Modélisation numérique des courants de marées dans les lagunes Le Bassin, Havre-aux-Maisons et Grande-Entrée aux Iles-de-la-Madeleine, golfe du Saint-Laurent. p.
- KOUTITONSKY VG, NAVARRO N, BOOTH D. 2002. Descriptive physical oceanography of Great-Entry lagoon, Gulf of St. Lawrence. *Estuarine Coastal and Shelf Science*. 54(5):833-847.
- KRAFFE E, SOUDANT P, MARTY Y. 2004. Fatty acids of serine, ethanolamine, and choline plasmalogens in some marine bivalves. *Lipids*. 39(1):59-66.
- KRAFFE E, SOUDANT P, MARTY Y, KERVAREC N, JEHAN P. 2002. Evidence of a tetradocosaheptaenoic cardiolipin in some marine bivalves. *Lipids*. 37(5):507-514.
- KRISTENSEN JB, MEYER RL, LAURSEN BS, SHIPOVSKOV S, BESENBACHER F, POULSEN CH. 2008. Antifouling enzymes and the biochemistry of marine settlement. *Biotechnology Advances*. 26(5):471-481.
- LABARTA U, FERNANDEZ-REIRIZ M, PEREZ-CAMACHO A. 1999. Dynamics of fatty acids in the larval development, metamorphosis and post-metamorphosis of *Ostrea edulis* (L.). *Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology*. 123(3):249-254.
- LACHANCE-BERNARD M, DAIGLE G, HIMMELMAN JH, FRECHETTE M. 2010. Biomass-density relationships and self-thinning of blue mussels (*Mytilus* spp.) reared on self-regulated longlines. *Aquaculture*. 308(1-2):34-43.
- LAGOS NA, TAPIA FJ, NAVARRETE SA, CASTILLA JC. 2007. Spatial synchrony in the recruitment of intertidal invertebrates along the coast of central Chile. *Marine Ecology Progress Series*. 350:29-39.
- LAMBERT R, RETIERE C, LAGADEUC Y. 1996. Metamorphosis of *Pectinaria koreni* (Annelida: Polychaeta) and recruitment of an isolated population in the English Channel. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 76(1):23-36.
- LANE DJW, NOTT JA. 1975. A study of the morphology, fine structure, and histochemistry of the foot of the pediveliger of *Mytilus edulis* L. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 62:809-818.

LANE DJW, BEAUMONT AR, HUNTER JR. 1985. Byssus drifting and the drifting threads of the young post-larval mussel *Mytilus edulis*. Marine Biology. 84:301-308.

LANGDON C, WALDOCK MJ. 1981. The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* spat. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. 61:431-448.

LASKER R. 1975. Field criteria for survival of anchovy larvae: the relation between inshore chlorophyll maximum layers and successful first feeding. Fish Bull, US. 73:453-462.

LASKER R. 1978. The relation between oceanographic conditions and larval anchovy food in the California Current: identification of factors contributing to recruitment failure. Rapp P-v Reun Cons Int Explor Mer. 173:221-230.

LAU SCK, THIYAGARAJAN V, CHEUNG SCK, QIAN PY. 2005. Roles of bacterial community composition in biofilms as a mediator for larval settlement of three marine invertebrates. Aquatic Microbial Ecology. 38(1):41-51.

LE BIHAN T, MARTIN SF, CHIRNSIDE ES, VAN OOIJEN G, BARRIOS-LLERENA ME, O'NEILL JS, SHLIAHA PV, KERR LE, MILLAR AJ. 2011. Shotgun proteomic analysis of the unicellular alga *Ostreococcus tauri*. Journal of Proteomics. 74(10):2060-2070.

LEADBEATER BSC. 2008. Choanoflagellate evolution: the morphological perspective. Protistology. 5(4):256-267.

LEBORGNE R, RODIER M, LEBOUTEILLER A, KULBICKI M. 1997. Plankton biomass and production in an open atoll lagoon: Uvea, New Caledonia. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 212(2):187-210.

LEE JW, NAM JH, KIM YH, LEE KH, LEE DH. 2008. Bacterial communities in the initial stage of marine biofilm formation on artificial surfaces. Journal of Microbiology. 46(2):174-182.

LEE RF, HAGEN W, KATTNER G. 2006. Lipid storage in marine zooplankton. Marine Ecology Progress Series. 307:273-306.

LEGENDRE L, DEMERS S. 1985. Auxiliary energy, ergoclines and aquatic biological production. Naturaliste Canadien. 112(1):5-14.

LEONARDOS N, LUCAS IAN. 2000. The use of larval fatty acids as an index of growth in *Mytilus edulis* L. larvae. *Aquaculture*. 184:155-166.

LEPAGE G, ROY CC. 1984. Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. *Journal of Lipid Research*. 25(12):1391-1396.

LEVASSEUR M, THERRIAULT JC, LEGENDRE L. 1984. Hierarchical control of phytoplankton succession by physical factors. *Marine Ecology Progress Series*. 19(3):211-222.

LEWIN R. 1986. Supply-side ecology. *Science*. 234(4772):25-27.

LEYTON YE, RIQUELME CE. 2008. Use of specific bacterial-microalgal biofilms for improving the larval settlement of *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) on three types of artificial spat-collecting materials. *Aquaculture*. 276(1-4):78-82.

LITZOW MA, BAILEY KM, PRAHL FG, HEINTZ R. 2006. Climate regime shifts and reorganization of fish communities: the essential fatty acid limitation hypothesis. *Marine Ecology Progress Series*. 315:1-11.

LOPEZ GR, HOLOPAINEN IJ. 1987. Interstitial suspension-feeding by *Pisidium* spp. (Pisidiidae, Bivalvia) - A new guild in the lentic benthos. *American Malacological Bulletin*. 5(1):21-29.

LOUGH RG. 1974. A re-evaluation of the combined effects of temperature and salinity on survival and growth of *Mytilus edulis* larvae using response surface techniques. *Proceedings of the National Shellfisheries Association*. 64:73-76.

LUCAS A, CHEBAB-CHALABI L, ALDANA ARANDA D. 1986. Passage de l'endotrophie à l'exotrophie chez les larves de *Mytilus edulis*. *Oceanologica Acta*. 9(1):97-103.

LUND ED, CHU FLE, HARVEY E, ADLOF R. 2008. Mechanism(s) of long chain n-3 essential fatty acid production in two species of heterotrophic protists: *Oxyrrhis marina* and *Gyrodinium dominans*. *Marine Biology* (New York). 155(1):23-36.

LUNDQUIST CJ, PILDITCH CA, CUMMINGS VJ. 2004. Behaviour controls post-settlement dispersal by the juvenile bivalves *Austrovenus stutchburyi* and *Macomona liliana*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 306(1):51-74.

LUTZ RA, KENNISH MJ. 1992. Ecology and morphology of larval and early postlarval mussels. In: *The Mytilus edulis: ecology, physiology, genetics and culture*. E Gosling ed. Amsterdam, Netherlands. p. 55-85.

MALZAHN AM, ABERLE N, CLEMMESSEN C, BOERSMA M. 2007. Nutrient limitation of primary producers affects planktivorous fish condition. *Limnology and Oceanography*. 52(5):2062-2071.

MANAHAN DJ, CRISP DJ. 1982. The role of the dissolved organic material in the nutrition of the pelagic larvae; amino acid uptake by bivalve veligers. *American Zoologist*. 22:635-646.

MANAHAN DT. 1990. Adaptations by invertebrate larvae for nutrient acquisition from seawater. *American Zoologist*. 30(1):147-160.

MANAHAN DT, RICHARDSON K. 1983. Competition studies on the uptake of dissolved organic nutrients by bivalve larvae (*Mytilus edulis*) and marine bacteria. *Marine Biology*. 75(2):241-247.

MANAHAN DT, WRIGHT SH, STEPHENS GC, RICE MA. 1982. Transport of dissolved amino acids by the mussel, *Mytilus edulis*: demonstration of net uptake from natural seawater. *Science*. 215:1254-1255.

MANSOUR MP, VOLKMAN JK, JACKSON AE, BLACKBURN SI. 1999. The fatty acid and sterol composition of five marine dinoflagellates. *Journal of Phycology*. 35(4):710-720.

MANTON I, PARKE M. 1960. Further observations on small green flagellates with special reference to possible relatives of *Chromulina pusilla* Butcher. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 39:275-298.

MARSHALL DJ, PECHENIK JA, KEOUGH MJ. 2003. Larval activity levels and delayed metamorphosis affect post-larval performance in the colonial, ascidian *Diplosoma listerianum*. *Marine Ecology Progress Series*. 246:153-162.

MARSHALL R, MCKINLEY S, PEARCE CM. 2010. Effects of nutrition on larval growth and survival in bivalves. *Reviews in Aquaculture*. 2(1):33-55.

MARTEL AL, AUFFREY LM, ROBLES CD, HONDA BM. 2000. Identification of settling and early postlarval stages of mussels (*Mytilus* spp.) from the Pacific coast of North

America, using prodissoconch morphology and genomic DNA. *Marine Biology*. 137:811-818.

MARTIN YP, MENGUS BM. 1977. Use of selected bacterial strains for feeding larvae of *Mytilus galloprovincialis* Lmk in experimental rearing. *Aquaculture*. 10(3):253-262.

MARTY Y, DELAUNAY F, MOAL J, SAMAIN JF. 1992. Changes in the fatty acid composition of *Pecten maximus* (L) during larval development. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 163(2):221-234.

MAYZAUD P, CHANUT JP, ACKMAN RG. 1989. Seasonal changes of the biochemical composition of marine particulate matter with special reference to fatty acids and sterols. *Marine Ecology Progress Series*. 56(1-2):189-204.

MAYZAUD P, ALBESSARD E, VIRTUE P, BOUTOUTE M. 2000. Environmental constraints on the lipid composition and metabolism of euphausiids: the case of *Euphausia superba* and *Meganyctiphanes norvegica*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 57:91-103.

MCCUNE B, GRACE JB. 2002. Analysis of ecological communities. MJM Pressp.

MCEDWARDS LR, QIAN PY. 2001. Effects of the duration and timing of starvation during larval life on the metamorphosis and initial juvenile size of the polychaete *Hydroides elegans* (Haswell). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 261:185-197.

MCGRATH D, KING PA, GOSLING EM. 1988. Evidence for the direct settlement of *Mytilus edulis* larvae on adult mussel beds. *Marine Ecology Progress Series*. 47:103-106.

MCQUAID CD, PHILLIPS TE. 2000. Limited wind-driven dispersal of intertidal mussel larvae: in situ evidence from the plankton and the spread of the invasive species *Mytilus galloprovincialis* in South Africa. *Marine Ecology Progress Series*. 201:211-220.

MELAOUAH N. 1990. Absorption et métabolisation de substances organiques dissoutes au cours du développement larvaire de *Mytilus edulis* L. (bivalve). *Oceanologica Acta*. 13(2):245-255.

MENGE BA. 1995. Indirect effects in marine rocky intertidal interaction webs: pattern and importance. *Ecological Monographs*. 65(1):21-74.

MERCIER A, BATTAGLENE SC, HAMEL JF. 2000. Settlement preferences and early migration of the tropical sea cucumber *Holothuria scabra*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 249(1):89-110.

METAXAS A. 2001. Behaviour in flow: perspectives on the distribution and dispersion of meroplanktonic larvae in the water column. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 58(1):86-98.

MEZIANE T, TSUCHIYA M. 2000. Fatty acids as tracers of organic matter in the sediment and food web of a mangrove/intertidal flat ecosystem, Okinawa, Japan. *Marine Ecology Progress Series*. 200:49-57.

MIDDELBURG JJ, BARRANGUET C, BOSCHER HTS, HERMAN PMJ, MOENS T, HEIP CHR. 2000. The fate of intertidal microphytobenthos carbon: An in situ C-13-labeling study. *Limnology and Oceanography*. 45(6):1224-1234.

MILKE LM, BRICELJ VM, PARRISH CC. 2004. Growth of postlarval sea scallops, *Placopecten magellanicus*, on microalgal diets, with emphasis on the nutritional role of lipids and fatty acids. *Aquaculture*. 234(1-4):293-317.

MILKE LM, BRICELJ VM, PARRISH CC. 2008. Biochemical characterization and nutritional value of three *Pavlova* spp. in unialgal and mixed diets with *Chaetoceros muelleri* for postlarval sea scallops, *Placopecten magellanicus*. *Aquaculture*. 276(1-4):130-142.

MIRON G, BOUDREAU B, BOURGET E. 1995. Use of larval supply in benthic ecology: testing correlations between larval supply and larval settlement. *Marine Ecology Progress Series*. 124(1-3):301-305.

MIRON G, AUDET D, LANDRY T, MORIYASU M. 2005. Predation potential of the invasive green crab (*Carcinus maenas*) and other common predators on commercial bivalve species found on Prince Edward island. *Journal of Shellfish Research*. 24(2):579-586.

MOKSNES PO, HEDVALL O, REINWALD T. 2003. Settlement behavior in shore crabs *Carcinus maenas*: why do postlarvae emigrate from nursery habitats? *Marine Ecology Progress Series*. 250:215-230.

MOON-VAN DER STAAY SY, DE WACHTER R, VAULOT D. 2001. Oceanic 18S rDNA sequences from picoplankton reveal unsuspected eukaryotic diversity. *Nature*. 409(6820):607-610.

MORGAN S. 1995a. Life and death in the plankton: larval mortality and adaptation. In: Ecology of marine invertebrate larvae. L McEdwards ed. Boca Raton, Florida: CRC Press. p. 279-322.

MORGAN SG. 1995b. The timing of larval release. In: Ecology of marine invertebrate larvae. L McEdward ed. Boca Raton: CRC. p. 157-191.

MORGAN SG. 2001. The larval ecology of marine communities. In: Marine community ecology. Be al. ed. Boca Raton, FL: Sinauer Associates. p. 159-181.

MORGAN SG, FISHER JL, MILLER SH, MCAFEE ST, LARGIER JL. 2009. Nearshore larval retention in a region of strong upwelling and recruitment limitation. Ecology. 90(12):3489-3502.

MUDGE SM, EAST JA, BEBIANNO MJ, BARREIRA LA. 1998. Fatty acids in the Ria Formosa Lagoon, Portugal. Organic Geochemistry. 29(4):963-977.

MULLER-NAVARRA DC. 2006. The nutritional importance of polyunsaturated fatty acids and their use as trophic markers for herbivorous zooplankton: Does it contradict? Archiv Fur Hydrobiologie. 167(1-4):501-513.

MULLER-NAVARRA DC, BRETT MT, LISTON AM, GOLDMAN CR. 2000. A highly unsaturated fatty acid predicts carbon transfer between primary producers and consumers. Nature. 403(6765):74-77.

MULLER-NAVARRA DC, BRETT MT, PARK S, CHANDRA S, BALLANTYNE AP, ZORITA E, GOLDMAN CR. 2004. Unsaturated fatty acid content in seston and trophodynamic coupling in lakes. Nature. 427(6969):69-72.

MULLER FMC, WERNER KE, KASAI M, FRANCESCONI A, CHANOCK SJ, WALSH TJ. 1998. Rapid extraction of genomic DNA from medically important yeasts and filamentous fungi by high-speed cell disruption. Journal of Clinical Microbiology. 36(6):1625-1629.

MULLINEAUX LS, BUTMAN CA. 1991. Initial contact, exploration and attachment of barnacle (*Balanus amphitrite*) cyprids settling in flow. Marine Biology. 110(1):93-103.

MULLINEAUX LS, GARLAND ED. 1993. Larval recruitment in response to manipulated field flows. Marine Biology. 116(4):667-683.

- MYRAND B, GAUDREAULT J. 1995. Summer mortality of blue mussels (*Mytilus edulis* Linnaeus, 1758) in the Magdalen Islands (southern Gulf of St Lawrence, Canada). *Journal of Shellfish Research*. 14(2):395-404.
- MYRAND B, GUDERLEY H, HIMMELMAN JH. 2000. Reproduction and summer mortality of blue mussels *Mytilus edulis* in the Magdalen Islands, southern Gulf of St. Lawrence. *Marine Ecology Progress Series*. 197:193-207.
- MYRAND B, TREMBLAY R, SEVIGNY JM. 2002. Selection against blue mussel (*Mytilus edulis* L.) homozygotes under various stressful conditions. *Journal of Heredity*. 93(4):238-248.
- NAPOLITANO GE, POLLERO RJ, GAYOSO AM, MACDONALD BA, THOMPSON RJ. 1997. Fatty acids as trophic markers of phytoplankton blooms in the Bahia Blanca estuary (Buenos Aires, Argentina) and in Trinity Bay (Newfoundland, Canada). *Biochemical Systematics and Ecology*. 25(8):739-755.
- NARVAEZ DA, NAVARRETE SA, LARGIER J, VARGAS CA. 2006. Onshore advection of warm water, larval invertebrate settlement, and relaxation of upwelling off central Chile. *Marine Ecology Progress Series*. 309:159-173.
- NARVAEZ M, FREITES L, GUEVARA M, MENDOZA J, GUDERLEY H, LODEIROS CJ, SALAZAR G. 2008. Food availability and reproduction affects lipid and fatty acid composition of the brown mussel, *Perna perna*, raised in suspension culture. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*. 149(2):293-302.
- NAVARRETE SA, WIETERS EA. 2000. Variation in barnacle recruitment over small scales: larval predation by adults and maintenance of community patterns. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 253:131-148.
- NELSON MM, MOONEY BD, NICHOLS PD, PHLEGER CF. 2001. Lipids of Antarctic Ocean amphipods: food chain interactions and the occurrence of novel biomarkers. *Marine Chemistry*. 73(1):53-64.
- NEVEJAN N, SAEZ I, GAJARDO G, SORGELOOS P. 2003. Supplementation of EPA and DHA emulsions to a *Dunaliella tertiolecta* diet: effect on growth and lipid composition of scallop larvae, *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). *Aquaculture*. 217(1-4):613-632.
- NEVEJAN NM, PRONKER AE, PEENE F. 2008. Hatchery broodstock conditioning of the blue mussel *Mytilus edulis* (Linnaeus, 1758). Part II. New formulated feeds offer new perspectives to commercial hatcheries. *Aquaculture International*. 16(6):483-495.

NEWELL RIE. 1989. Species profiles: life histories and environmental requirements of coastal fishes and invertebrates (North and Mid-Atlantic): Blue mussel. n° TR E1-82-4. 25 p.

NEWELL RIE, HILBISH TJ, KOEHN RK, NEWELL CJ. 1982. Temporal variation in the reproductive cycle of *Mytilus edulis* (Bivalvia, Mytilidae) from localities on the east coast of the United States. Biological Bulletin (Woods Hole). 162:299-310.

NICHOLS DS. 2003. Prokaryotes and the input of polyunsaturated fatty acids to the marine food web. FEMS Microbiology Letters. 219(1):1-7.

NOCKER A, LEPO JE, SNYDER RA. 2004. Influence of an oyster reef on development of the microbial heterotrophic community of an estuarine biofilm. Applied and Environmental Microbiology. 70(11):6834-6845.

NORKKO A, CUMMINGS VJ, THRUSH SF, HEWITT JE, HUME T. 2001. Local dispersal of juvenile bivalves: implications for sandflat ecology. Marine Ecology Progress Series. 212:131-144.

NOT F, SIMON N, BIEGALA IC, VAULOT D. 2002. Application of fluorescent in situ hybridization coupled with tyramide signal amplification (FISH-TSA) to assess eukaryotic picoplankton composition. Aquatic Microbial Ecology. 28(2):157-166.

NOT F, LATASA M, MARIE D, CARIOU T, VAULOT D, SIMON N. 2004. A single species, *Micromonas pusilla* (Prasinophyceae), dominates the eukaryotic picoplankton in the western English channel. Applied and Environmental Microbiology. 70(7):4064-4072.

O'BEIRN FX, NEVES RJ, STEG MB. 1998. Survival and growth of juvenile freshwater mussels (Unionidae) in a recirculating aquaculture system. American Malacological Bulletin. 14(2):165-171.

O'CONNOR NE, CROWE TP, MCGRATH D. 2006. Effects of epibiotic algae on the survival, biomass and recruitment of mussels, *Mytilus* L. (Bivalvia : Mollusca). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 328(2):265-276.

Ó FOIGHIL D, KINGZETT B, Ó FOIGHIL G, BOURNE N. 1990. Growth and survival of juvenile Japanese scallops, *Patinopecten yessoensis*, in nursery culture. Journal of Shellfish Research. 9(1):135-144.

OLAFSSON EB, PETERSON CH, AMBROSE WG. 1994. Does recruitment limitation structure populations and communities of macroinvertebrates in marine soft-sediments: the relative significance of presettlement and postsettlement processes. *Oceanography and Marine Biology*. 32:65-109.

OLIVIER F, RETIÈRE C. 1998. The role of physical-biological coupling in the benthic boundary layer under megatidal conditions: The case of the dominant species of the *Abra alba* community in the eastern Baie de Seine (English channel). *Estuaries*. 21(4A):571-584.

OLIVIER F, RETIÈRE C. 2006. How to leave or stay on the substratum when you can't swim? Evidence of the role of mucus thread secretion by postlarvae of *Pectinaria koreni* (Malmgren) in still water and flume experiments. *Aquatic Ecology*. 40(4):503-519.

OLIVIER F, VALLET C, DAUVIN J-C, RETIÈRE C. 1996. Drifting in post-larvae and juveniles in an *Abra alba* (Wood) community of the eastern part of the Bay of Seine (English Channel). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 199(1):89-109.

OLIVIER F, TREMBLAY R, BOURGET E, RITTSCHOF D. 2000. Barnacle settlement: field experiments on the influence of larval supply, tidal level, biofilm quality and age on *Balanus amphitrite* cyprids. *Marine Ecology Progress Series*. 199:185-204.

OLSON RR, OLSON MH. 1989. Food limitation of planktotrophic marine invertebrate larvae: Does it control recruitment success. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 20:225-247.

OSMAN RW, WHITLATCH RB. 1995. Predation on early ontogenic life stages and its effect on recruitment into a marine epifaunal community. *Marine Ecology Progress Series*. 117(1-3):111-126.

OSMAN RW, WHITLATCH RB. 2004. The control of the development of a marine benthic community by predation on recruits. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 311(1):117-145.

OUELLET P, TAGGART CT, FRANK KT. 1995. Early growth, lipid-composition, and survival expectations of shrimp *Pandalus borealis* larvae in the northern Gulf of St-Lawrence. *Marine Ecology Progress Series*. 126(1-3):163-175.

OUELLET P, SAVARD L, LAROUCHE P. 2007. Spring oceanographic conditions and northern shrimp *Pandalus borealis* recruitment success in the north-western Gulf of St. Lawrence. *Marine Ecology Progress Series*. 339:229-241.

PALMA AT, WAHLE RA, STENECK RS. 1998. Different early post-settlement strategies between American lobsters *Homarus americanus* and rock crabs *Cancer irroratus* in the Gulf of Maine. Marine Ecology Progress Series. 162:215-225.

PALMER RJ, WHITE DC. 1997. Developmental biology of biofilms: implications for treatment and control. Trends in Microbiology. 5(11):435-440.

PARADIS M, ACKMAN R. 1977. Potential for employing the distribution of anomalous non-methylene-interrupted dienoic fatty acids in several marine invertebrates as part of food web studies. Lipids. 12(2):170-176.

PARKES RJ, TAYLOR J. 1983. The relationship between fatty acid distributions and bacterial respiratory types in contemporary marine sediments. Estuarine Coastal and Shelf Science. 16:173-189.

PARRISH CC. 1987. Separation of aquatic lipid classes by chromarod thin-layer chromatography with measurement by iatroscan flame ionization detection. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 44(4):722-731.

PARRISH CC. 2008. Essential fatty acids in aquatic food webs. In: Lipids in aquatic ecosystems. MT Arts, Brett MT, Kainz M ed. New York: Springer Verlag. p. 309-326.

PARRISH CC, THOMPSON RJ, DEIBEL D. 2005. Lipid classes and fatty acids in plankton and settling matter during the spring bloom in a cold ocean coastal environment. Marine Ecology Progress Series. 286:57-68.

PARRISH CC, WHITICAR M, PUVANENDRAN V. 2007. Is omega 6 docosapentaenoic acid an essential fatty acid during early ontogeny in marine fauna? Limnology and Oceanography. 52(1):476-479.

PARRISH CC, DEFREITAS ASW, BODENNEC G, MACPHERSON EJ, ACKMAN RG. 1991. Lipid composition of the toxic marine diatom, *Nitzschia pungens*. Phytochemistry. 30(1):113-116.

PASKOFF R. 2010. Les littoraux: impact des aménagements sur leur évolution. Armand Colin ed. Paris. 257 p.

PAUL VJ, PUGLISI MP, RITSON-WILLIAMS R. 2006. Marine chemical ecology. Natural Product Reports. 23(2):153-180.

PAWLIK JR. 1992. Chemical ecology of the settlement of benthic marine invertebrates. *Oceanography and Marine Biology*. 30:273-335.

PECHENIK JA. 1990. Delayed metamorphosis by larvae of benthic marine invertebrates. Does it occur? Is there a price to pay? *Ophelia*. 32(1-2):63-94.

PECHENIK JA. 2006. Larval experience and latent effects - metamorphosis is not a new beginning. *Integrative and Comparative Biology*. 46(3):323-333.

PECHENIK JA, CERULLI TR. 1991. Influence of delayed metamorphosis on survival, growth, and reproduction of the marine polychaete *Capitella* sp-I. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 151(1):17-27.

PECHENIK JA, RITTSCHOF D, SCHMIDT AR. 1993. Influence of delayed metamorphosis on survival and growth of juvenile barnacles *Balanus Amphitrite*. *Marine Biology*. 115(2):287-294.

PECHENIK JA, ESTRELLA MS, HAMMER K. 1996a. Food limitation stimulates metamorphosis of competent larvae and alters postmetamorphic growth rate in the marine prosobranch gastropod *Crepidula fornicata*. *Marine Biology*. 127(2):267-275.

PECHENIK JA, HAMMER K, WEISE C. 1996b. The effect of starvation on acquisition of competence and post-metamorphic performance in the marine prosobranch gastropod *Crepidula fornicata* (L). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 199(1):137-152.

PECHENIK JA, WENDT DE, JARRETT JN. 1998. Metamorphosis is not a new beginning. *Bioscience*. 48(11):901-910.

PECHENIK JA, EYSTER LS, WIDDOWS J, BAYNE BL. 1990. The influence of food concentration and temperature on growth and morphological differentiation of blue mussel *Mytilus edulis* L. larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 136(1):47-64.

PEDERSEN TM, HANSEN JLS, JOSEFSON AB, HANSEN BW. 2008. Mortality through ontogeny of soft-bottom marine invertebrates with planktonic larvae. *Journal of Marine Systems*. 73(1-2):185-207.

PEREZ-RUZAF A, GILABERT J, GUTIERREZ JM, FERNANDEZ AI, MARCOS C, SABAH S. 2002. Evidence of a planktonic food web response to changes in nutrient input dynamics in the Mar Menor coastal lagoon, Spain. *Hydrobiologia*. 475(1):359-369.

PERHAR G, ARHONDITSIS GB. 2009. The effects of seston food quality on planktonic food web patterns. *Ecological Modelling*. 220(6):805-820.

PERNET F, TREMBLAY R. 2004. Effect of varying levels of dietary essential fatty acid during early ontogeny of the sea scallop *Placopecten magellanicus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 310(1):73-86.

PERNET F, TREMBLAY R, BOURGET E. 2003a. Settlement success, spatial pattern and behavior of mussel larvae *Mytilus* spp. in experimental 'downwelling' systems of varying velocity and turbulence. *Marine Ecology Progress Series*. 260:125-140.

PERNET F, TREMBLAY R, BOURGET E. 2003b. Biochemical indicator of sea scallop (*Placopecten magellanicus*) quality based on lipid class composition. Part II: Larval growth, competency and settlement. *Journal of Shellfish Research*. 22(2):377-388.

PERNET F, BRICELJ VM, PARRISH CC. 2005. Effect of varying dietary levels of omega 6 polyunsaturated fatty acids during the early ontogeny of the sea scallop, *Placopecten magellanicus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 327(2):115-133.

PERNET F, BRICELJ VM, CARTIER S. 2006a. Lipid class dynamics during larval ontogeny of sea scallops, *Placopecten magellanicus*, in relation to metamorphic success and response to antibiotics. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 329(2):265-280.

PERNET F, GAUTHIER-CLERC S, MAYRAND E. 2007. Change in lipid composition in eastern oyster (*Crassostrea virginica* Gmelin) exposed to constant or fluctuating temperature regimes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B Biochemistry & Molecular Biology*. 147(3):557-565.

PERNET F, TREMBLAY R, DEMERS E, ROUSSY M. 2003c. Variation of lipid class and fatty acid composition of *Chaetoceros muelleri* and *Isochrysis* sp. grown in a semicontinuous system. *Aquaculture*. 221(1-4):393-406.

PERNET F, TREMBLAY R, LANGDON C, BOURGET E. 2004. Effect of additions of dietary triacylglycerol microspheres on growth, survival, and settlement of mussel (*Mytilus* sp.) larvae. *Marine Biology*. 144(4):693-703.

PERNET F, TREMBLAY R, GIONET C, LANDRY T. 2006b. Lipid remodeling in wild and selectively bred hard clams at low temperatures in relation to genetic and physiological parameters. *Journal of Experimental Biology*. 209(23):4663-4675.

PERRY GJ, VLKMAN JK, JOHNS RB, BAVOR JR HJ. 1979. Fatty acids of bacterial origin in contemporary marine sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 43:1715-1725.

PETEIRO LG, FILGUEIRA L, FERNANDEZ-REIRIZ U. 2007. Effect of submerged time of collector ropes on the settlement capacity of *Mytilus galloprovincialis* L. *Aquaculture Research*. 38(15):1679-1681.

PETERSEN JH. 1984. Larval settlement behavior in competing species : *Mytilus californianus* Conrad and *M. edulis* L. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 82:147-159.

PETTERSEN AK, TURCHINI GM, JAHANGARD S, INGRAM BA, SHERMAN CDH. 2010. Effects of different dietary microalgae on survival, growth, settlement and fatty acid composition of blue mussel (*Mytilus galloprovincialis*) larvae. *Aquaculture*. 309(1-4):115-124.

PHILIPPART CJM, VAN AKEN HM, BEUKEMA JJ, BOS OG, CADEE GC, DEKKER R. 2003. Climate-related changes in recruitment of the bivalve *Macoma balthica*. *Limnology and Oceanography*. 48(6):2171-2185.

PHILLIPS NE. 2002. Effects of nutrition-mediated larval condition on juvenile performance in a marine mussel. *Ecology*. 83(9):2562-2574.

PHILLIPS NE. 2004. Variable timing of larval food has consequences for early juvenile performance in a marine mussel. *Ecology*. 85(8):2341-2346.

PHILLIPS NE. 2006. Natural variability in size and condition at settlement of 3 species of marine invertebrates. *Integrative and Comparative Biology*. 46(5):598-604.

PHLEGER CF, NELSON MM, MOONEY BD, NICHOLS PD. 2002. Interannual and between species comparison of the lipids, fatty acids and sterols of Antarctic krill from the US AMLR Elephant Island survey area. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*. 131(4):733-747.

PIGANEAU G, GRIMSLEY N, MOREAU H. 2011. Genome diversity in the smallest marine photosynthetic eukaryotes. *Research in Microbiology*. 162(6):570-577.

PINEDA J. 1991. Predictable upwelling and the shoreward transport of planktonic larvae by internal tidal bores. *Science*. 253(5019):548-551.

PINEDA J. 2000. Linking larval settlement to larval transport: assumptions, potentials, and pitfalls. *Oceanography of the Eastern Pacific*. 1:84-105.

PINEDA J, REYNS N, STARCZAK V. 2009. Complexity and simplification in understanding recruitment in benthic populations. *Population Ecology*. 51(1):17-32.

PINEDA J, PORRI F, STARCZAK V, BLYTHE J. 2010. Causes of decoupling between larval supply and settlement and consequences for understanding recruitment and population connectivity. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 392(1-2):9-21.

POND DW, BELL MV, DIXON DR, FALLICK AE, SEGONZAC M, SARGENT JR. 1998. Stable-carbon-isotope composition of fatty acids in hydrothermal vent mussels containing methanotrophic and thiotrophic bacterial endosymbionts. *Applied and Environmental Microbiology*. 64(1):370-375.

PORRI F, MCQUAID CD, RADLOFF S. 2006a. Spatio-temporal variability of larval abundance and settlement of *Perna perna*: differential delivery of mussels. *Marine Ecology Progress Series*. 315:141-150.

PORRI F, MCQUAID CD, RADLOFF S. 2006b. Temporal scales of variation in settlement and recruitment of the mussel *Perna perna* (Linnaeus, 1758). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 332(2):178-187.

PORRI F, JORDAAN T, MCQUAID CD. 2008a. Does cannibalism of larvae by adults affect settlement and connectivity of mussel populations? *Estuarine Coastal and Shelf Science*. 79(4):687-693.

PORRI F, MCQUAID CD, LAWRIE SM, ANTROBUS SJ. 2008b. Fine-scale spatial and temporal variation in settlement of the intertidal mussel *Perna perna* indicates differential hydrodynamic delivery of larvae to the shore. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 367(2):213-218.

PRANAL V, FIALAMEDIONI A, GUEZENNEC J. 1996. Fatty acid characteristics in two symbiotic gastropods from a deep hydrothermal vent of the west Pacific. *Marine Ecology Progress Series*. 142(1-3):175-184.

PRATO E, DANIELI A, MAFFIA M, BIANCOLINO F. 2010. Lipid and Fatty Acid Compositions of *Mytilus galloprovincialis* Cultured in the Mar Grande of Taranto (Southern Italy): Feeding Strategies and Trophic Relationships. *Zoological Studies*. 49(2):211-219.

PRONKER AE, NEVEJAN NM, PEENE F, GEIJSEN P, SORGELOOS P. 2008. Hatchery broodstock conditioning of the blue mussel *Mytilus edulis* (Linnaeus 1758). Part I. Impact of different micro-algae mixtures on broodstock performance. *Aquaculture International*. 16(4):297-307.

PULFRICH A. 1997. Seasonal variation in the occurrence of planktic bivalve larvae in the Schleswig-Holstein Wadden Sea. *Helgolander Meeresuntersuchungen*. 51(1):23-39.

QIAN PY, PECHENIK JA. 1998. Effects of larval starvation and delayed metamorphosis on juvenile survival and growth of the tube-dwelling polychaete *Hydroides elegans* (Haswell). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 227(2):169-185.

QIAN PY, RITTSCHOF D, SREEDHAR B, CHIA FS. 1999. Macrofouling in unidirectional flow: miniature pipes as experimental models for studying the effects of hydrodynamics on invertebrate larval settlement. *Marine Ecology Progress Series*. 191:141-151.

QIAN PY, LAU SCK, DAHMS HU, DOBRETISOV S, HARDER T. 2007. Marine biofilms as mediators of colonization by marine macroorganisms: Implications for antifouling and aquaculture. *Marine Biotechnology*. 9(4):399-410.

QIU JW, TREMBLAY R, BOURGET E. 2002. Ontogenetic changes in hyposaline tolerance in the mussels *Mytilus edulis* and *M. trossulus*: implications for distribution. *Marine Ecology Progress Series*. 228:143-152.

RABY D, LAGADEUC Y, DODSON JJ, MINGELBIER M. 1994. Relationship between feeding and vertical-distribution of bivalve larvae in stratified and mixed waters. *Marine Ecology Progress Series*. 103(3):275-284.

RABY D, MINGELBIER M, DODSON JJ, KLEIN B, LAGADEUC Y, LEGENDRE L. 1997. Food-particle size and selection by bivalve larvae in a temperate embayment. *Marine Biology*. 127(4):665-672.

- RAHIM S, LI JY, KITAMURA H. 2004. Larval metamorphosis of the sea urchins, *Pseudocentrotus depressus* and *Anthocardaris crassispina* in response to microbial films. *Marine Biology*. 144(1):71-78.
- RAILKIN AI. 2004. Marine biofouling: colonization processes and defenses. Boca Raton: CRC Press. 303 p.
- RAIMONDI PT. 1988. Settlement cues and determination of the vertical limit of an intertidal barnacle. *Ecology*. 69:400-407.
- RAIMONDI PT, KEOUGH MJ. 1990. Behavioural variability in marine larvae. *Australian Journal of Ecology*. 15:427-438.
- RAVEN JA. 1998. The twelfth Tansley Lecture. Small is beautiful: the picophytoplankton. *Functional Ecology*. 12(4):503-513.
- RAYSSAC N, PERNET F, LACASSE O, TREMBLAY R. 2010. Temperature effect on survival, growth, and triacylglycerol content during the early ontogeny of *Mytilus edulis* and *M. trossulus*. *Marine Ecology Progress Series*. 417:183-191.
- REAUGH KE, HARRIS JM, BRANCH GM. 2007. Further refutation of the primary-secondary settlement hypothesis for the brown mussel *Perna perna*. *African Journal of Marine Science*. 29(3):545-549.
- REID RGB, MCMAHON RF, FOIGHIL DO, FINNIGAN R. 1992. Anterior inhalant currents and pedal feeding in bivalves. *Veliger*. 35(2):93-104.
- REZANKA T, SIGLER K. 2009. Odd-numbered very-long-chain fatty acids from the microbial, animal and plant kingdoms. *Progress in Lipid Research*. 48(3-4):206-238.
- RICO-VILLA B, POUVREAU S, ROBERT R. 2009. Influence of food density and temperature on ingestion, growth and settlement of Pacific oyster larvae, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*. 287(3-4):395-401.
- RIISGARD HU, RANDLOV A, KRISTENSEN PS. 1980. Rates of water processing, oxygen consumption and efficiency of particle retention in veligers and young post-metamorphic *Mytilus edulis*. *Ophelia*. 19(1):37-47.

RILOV G, SCHIEL DR. 2011. Community eegulation: the relative importance of recruitment and predation intensity of an intertidal community dominant in a seascape context. PLoS ONE. 6(8).

RITTSCHOF D, SIN TM, TEO SLM, COUTINHO R. 2007. Fouling in natural flows: Cylinders and panels as collectors of particles and barnacle larvae. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 348(1-2):85-96.

ROBERT R, GERARD A. 1999. Bivalve hatchery technology: The current situation for the Pacific oyster *Crassostrea gigas* and the scallop *Pecten maximus* in France. Aquatic Living Resources. 12(2):121-130.

RODRIGUEZ F, DERELLE E, GUILLOU L, LE GALL F, VAULOT D, MOREAU H. 2005. Ecotype diversity in the marine picoeukaryote *Ostreococcus* (Chlorophyta, Prasinophyceae). Environmental Microbiology. 7(6):853-859.

RODRIGUEZ SR, OJEDA FP, INESTROSA NC. 1993. Settlement of benthic marine invertebrates. Marine Ecology Progress Series. 97(2):193-207.

ROSSI S, YOUNGBLUTH MJ, JACOBY CA, PAGES F, GARROFE X. 2008. Fatty acid trophic markers and trophic links among seston, crustacean zooplankton and the siphonophore *Nanomia cara* in Georges Basin and Oceanographer Canyon (NW Atlantic). Scientia Marina. 72(2):403-416.

ROTHSCHILD BJ, OSBORN TR. 1988. Small-scale turbulence and plankton contact rates. Journal of Plankton Research. 10:465-474.

ROY S, MAYZAUD P, SOUCHU P. 1991. Environnement physico-chimique et trophique d'un site mytilicole, îles-de-la-Madeleine (Québec): II-Matière particulaire, composition biochimique et productivité primaire. In: Le golfe du Saint-Laurent: petit océan ou grand estuaire? JC Therriault ed.: Publ. spéc. can. sci. halieut. aquat.

SAITO H. 2004. Lipid and FA composition of the pearl oyster *Pinctada fucata martensii*: Influence of season and maturation. Lipids. 39(10):997-1005.

SAITO H. 2007. Identification of novel n-4 series polyunsaturated fatty acids in a deep-sea clam, *Calyptogena phaseoliformis*. Journal of Chromatography A. 1163(1-2):247-259.

SAITO H. 2008. Unusual novel n-4 polyunsaturated fatty acids in cold-seep mussels (*Bathymodiolus japonicus* and *Bathymodiolus platifrons*), originating from symbiotic methanotrophic bacteria. *Journal of Chromatography A*. 1200(2):242-254.

SAITO H, SEIKE Y, IOKA H, OSAKO K, TANAKA M, TAKASHIMA A, KERIKO JM, KOSE S, SOUZA JCR. 2005. High docosahexaenoic acid levels in both neutral and polar lipids of a highly migratory fish: *Thunnus tonggol* (Bleeker). *Lipids*. 40(9):941-953.

SARGENT J, MCEVOY L, ESTEVEZ A, BELL G, BELL M, HENDERSON J, TOCHER D. 1999. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture*. 179(1-4):217-229.

SARGENT JR, WHITTLE KJ. 1981. Lipids and hydrocarbons in the marine food web. In: *Analysis of marine ecosystems*. AR Longhurst ed.: Academic, London. p. 491-533.

SARGENT JR, HENDERSON RJ. 1986. Lipids. In: *Biological chemistry of marine copepods*. EDS Comer, O'Hara S ed.: Oxford; University Press. p. 56-108.

SARGENT JR, MCEVOY LA, BELL JG. 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture*. 155(1-4):117-127.

SARGENT JR, BELL JG, BELL MV, HENDERSON RJ, TOCHER DR. 1995. Requirement criteria for essential fatty acids. *Journal of Applied Ichthyology-Zeitschrift Fur Angewandte Ichthyologie*. 11(3-4):183-198.

SATUITO CG, NATOYAMA K, YAMAZAKI M, FUSETANI N. 1995. Induction of attachment and metamorphosis of laboratory cultured mussel *Mytilus edulis galloprovincialis* larvae by microbial film. *Fisheries Science*. 61(2):223-227.

SATUITO CG, NATOYAMA K, YAMAZAKI M, SHIMIZU K, FUSETANI N. 1999. Induction of metamorphosis in the pediveliger larvae of the mussel *Mytilus galloprovincialis* by neuroactive compounds. *Fisheries Science*. 65(3):384-389.

SAVIN MC, MARTIN JL, LEGRESLEY M, GIEWAT M, ROONEY-VARGA J. 2004. Plankton diversity in the Bay of Fundy as measured by morphological and molecular methods. *Microbial Ecology*. 48(1):51-65.

SCHLOSS PD, WESTCOTT SL, RYABIN T, HALL JR, HARTMANN M, HOLLISTER EB, LESNIEWSKI RA, OAKLEY BB, PARKS DH, ROBINSON CJ, et al. 2009. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software

for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*. 75(23):7537-7541.

SEDANO FJ, RODRIGUEZ JL, RUIZ C, GARCIA MARTIN LO, SANCHEZ JL. 1995. Biochemical composition and fertilization in the eggs of *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 192(1):75-85.

SEED R. 1969. The ecology of *Mytilus edulis* L. (Lamellibranchiata) on exposed rocky shores. I. Breeding and Settlement. *Oecologia*. V3(3):277-316.

SEED R. 1976. Ecology. In: *Marine mussels: their ecology and physiology*. BL Bayne ed. Cambridge: Cambridge University Press. p. 13-65.

SERVEL M-O, CLAIRE C, DERRIEN A, COIFFARD L, DE ROECK-HOLTZHAUER Y. 1994. Fatty acid composition of some marine microalgae. *Phytochemistry*. 36(3):691-693.

SHANKS AL. 2009. Pelagic larval duration and dispersal distance revisited. *Biological Bulletin*. 216(3):373-385.

SHANKS AL, BRINK L. 2005. Upwelling, downwelling, and cross-shelf transport of bivalve larvae: test of a hypothesis. *Marine Ecology Progress Series*. 302:1-12.

SHANKS AL, SHEARMAN RK. 2011. Thread-drifting juvenile *Mytilus* spp. in continental shelf waters off Coos Bay, Oregon, USA. *Marine Ecology Progress Series*. 427:105-115.

SHIN PKS, YIP KM, XU WS, WONG WH, CHEUNG SG. 2008. Fatty acid as markers to demonstrating trophic relationship among diatoms, rotifers and green-lipped mussels. *Journal of Experimental Biology and Ecology*. 357:75-84.

SIGURDSSON JB. 1976. The dispersal of young post-larval bivalve molluscs by byssus threads. *Nature*. 262(5567):386-387.

SIMON N, LEBOT N, MARIE D, PARTENSKY F, VAULOT D. 1995. Fluorescent *in situ* hybridization with ribosomal RAN targeted oligonucleotides probes to identify small phytoplankton by flow cytometry. *Applied and Environmental Microbiology*. 61(7):2506-2513.

SINCLAIR M. 1988. Marine populations. An essay on population regulation and speciation. University of Washington Press, Seattle, Wash.p.

SINCLAIR M. 2009. Herring and ICES: a historical sketch of a few ideas and their linkages. ICES Journal of Marine Science. 66(8):1652-1661.

SIX C, FINKEL ZV, RODRIGUEZ F, MARIE D, PARTENSKY F, CAMPBELL DA. 2008. Contrasting photoacclimation costs in ecotypes of the marine eukaryotic picoplankter *Ostreococcus*. Limnology and Oceanography. 53(1):255-265.

SLAPETA J, LOPEZ-GARCIA P, MOREIRA D. 2006. Global dispersal and ancient cryptic species in the smallest marine eukaryotes. Molecular Biology and Evolution. 23(1):23-29.

SMITH WL, MURPHY RC. 2003. The eicosanoids: cyclooxygenase, lipoxygenase, and epoxygenase pathways. In: Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes. DE Vance, Vance JE ed. Amsterdam: Elsevier Science. p. 341-371.

SOUDANT P, MOAL J, MARTY Y, SAMAIN JF. 1996. Impact of the quality of dietary fatty acids on metabolism and the composition of polar lipid classes in female gonads of *Pecten maximus* (L.). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 205(1-2):149-163.

SOUDANT P, MARTY Y, MOAL J, MASSKI H, SAMAIN JF. 1998. Fatty acid composition of polar lipid classes during larval development of scallop *Pecten maximus* (L.). Comparative Biochemistry and Physiology Part A Molecular & Integrative Physiology. 121(3):279-288.

SOUDANT P, VAN RYCKEGHEM K, MARTY Y, MOAL J, SAMAIN JF, SORGELOOS P. 1999. Comparison of the lipid class and fatty acid composition between a reproductive cycle in nature and a standard hatchery conditioning of the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*. Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology. 123(2):209-222.

SPONAUGLE S, COWEN RK, SHANKS A, MORGAN SG, LEIS JM, PINEDA JS, BOEHLERT GW, KINGSFORD MJ, LINDEMAN KC, GRIMES C, et al. 2002. Predicting self-recruitment in marine populations: Biophysical correlates and mechanisms. Bulletin of Marine Science. 70(1):341-375.

SPRUNG M. 1984a. Physiological energetics of mussel larvae (*Mytilus edulis*). I. Shell growth and biomass. Marine Ecology Progress Series. 17:283-293.

- SPRUNG M. 1984b. Physiological energetics of mussel larvae (*Mytilus edulis*). II. Food uptake. Marine Ecology Progress Series. 17:295-305.
- STAL LJ. 2003. Microphytobenthos, their extracellular polymeric substances, and the morphogenesis of intertidal sediments. Geomicrobiology Journal. 20(5):463-478.
- STAMPS JA, KRISHNAN VV, REID ML. 2005. Search costs and habitat selection by dispersers. Ecology. 86(2):510-518.
- STARR M, HIMMELMAN JH, THERRIAULT JC. 1990. Direct coupling of marine invertebrate spawning with phytoplankton blooms. Science. 247(4946):1071-1074.
- STARR M, HIMMELMAN JH, THERRIAULT JC. 1991. Coupling of nauplii release in barnacles with phytoplankton blooms - a parallel strategy to that of spawning in urchins and mussels. Journal of Plankton Research. 13(3):561-571.
- STARR M, HIMMELMAN JH, THERRIAULT JC. 1993. Environmental-control of green sea-urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*, spawning in the St-Lawrence Estuary. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 50(5):894-901.
- STEPHENS GC. 1981. The trophic role of dissolved organic material. In: Analysis of marine ecosystems. AR Longhurst ed. New York: Academic Press. p. 271-291.
- STEVENS CJ, DEIBEL D, PARRISH CC. 2004a. Incorporation of bacterial fatty acids and changes in a wax ester-based omnivory index during a long-term incubation experiment with *Calanus glacialis* Jaschnov. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 303(2):135-156.
- STEVENS CJ, DEIBEL D, PARRISH CC. 2004b. Species-specific differences in lipid composition and omnivory indices in Arctic copepods collected in deep water during autumn (North Water Polynya). Marine Biology. 144(5):905-915.
- STRATHMANN RR, LEISE E. 1979. On feeding mechanisms and clearance rates of molluscan veligers. Biological Bulletin. 157:524-535.
- SUCHANEK TH. 1981. The role of disturbance in the evolution of life-history strategies in the inter-tidal mussels *Mytilus edulis* and *Mytilus Californianus*. Oecologia. 50(2):143-152.
- TAMBURRI MN, ZIMMER RK, ZIMMER CA. 2007. Mechanisms reconciling gregarious larval settlement with adult cannibalism. Ecological Monographs. 77(2):255-268.

TANG KW, TAAL M. 2005. Trophic modification of food quality by heterotrophic protists: species-specific effects on copepod egg production and egg hatching. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 318(1):85-98.

TAYLOR FJR, HOPPENRATH M, SALDARRIAGA JF. 2008. Dinoflagellate diversity and distribution. *Biodiversity and Conservation*. 17(2):407-418.

THEROUX RB, WIGLER RL. 1983. Distribution and abundance of east coast bivalve molluscs based on specimen in the National Marine Fisheries Services Woods Hole collection. n° SSRF-768. p.

THIEMANN GW, IVERSON SJ, STIRLING I. 2008. Polar bear diets and Arctic marine food webs: insights from fatty acid analysis. *Ecological Monographs*. 78(4):591-613.

THIYAGARAJAN V. 2010. A review on the role of chemical cues in habitat selection by barnacles: New insights from larval proteomics. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 392(1-2):22-36.

THIYAGARAJAN V, HARDER T, QIAN PY. 2002. Relationship between cyprid energy reserves and metamorphosis in the barnacle *Balanus amphitrite* Darwin (Cirripedia; Thoracica). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 280(1-2):79-93.

THIYAGARAJAN V, HUNG OS, CHIU JMY, WU RSS, QIAN PY. 2005. Growth and survival of juvenile barnacle *Balanus amphitrite*: interactive effects of cyprid energy reserve and habitat. *Marine Ecology Progress Series*. 299:229-237.

THOMAS Y, GAREN P, COURTIES C, CHARPY L. 2010. Spatial and temporal variability of the pico- and nanophytoplankton and bacterioplankton in a deep Polynesian atoll lagoon. *Aquatic Microbial Ecology*. 59(1):89-101.

THOMPSON RC, NORTON TA, HAWKINS SJ. 2004. Physical stress and biological control regulate the producer-consumer balance in intertidal biofilms. *Ecology*. 85(5):1372-1382.

THOMPSON RC, MOSCHELLA PS, JENKINS SR, NORTON TA, HAWKINS SJ. 2005. Differences in photosynthetic marine biofilms between sheltered and moderately exposed rocky shores. *Marine Ecology Progress Series*. 296:53-63.

THOMSEN HA, BUCK KR. 1998. Nanoflagellates of the central California waters: taxonomy, biogeography and abundance of primitive, green flagellates (Pedinophyceae,

Prasinophyceae). Deep-Sea Research Part II-Topical Studies in Oceanography. 45(8-9):1687-1707.

THORSON G. 1950. Reproductive and larval ecology of marine bottom invertebrates. Biological Review. 25:1-45.

THORSON G. 1966. Some factors influencing the recruitment and establishment of marine benthic communities. Neth J Sea Res. 3:267-293.

TODD CD, KEOUGH MJ. 1994. Larval settlement in hard substratum epifaunal assemblages: a manipulative field study of the effects of substratum filming and the presence of the incumbents. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 181(2):159-187.

TOONEN RJ, PAWLIK JR. 2001. Foundations of gregariousness: A dispersal polymorphism among the planktonic larvae of a marine invertebrate. Evolution. 55(12):2439-2454.

TOONEN RJ, TYRE AJ. 2007. If larvae were smart: a simple model for optimal settlement behavior of competent larvae. Marine Ecology Progress Series. 349:43-61.

TOUPOINT N, GILMORE-SOLOMON L, BOURQUE F, MYRAND B, PERNET F, OLIVIER F, TREMBLAY R. Submitted. Match/mismatch between larval supply of *Mytilus edulis* and seston quality: effect on recruitment. Ecology. Accepted for publication.

TRAN C, HADFIELD MG. 2011. Larvae of *Pocillopora damicornis* (Anthozoa) settle and metamorphose in response to surface-biofilm bacteria. Marine Ecology Progress Series. 433:85-96.

TREMBLAY G, BELZILE C, GOSSELIN M, POULIN M, ROY S, TREMBLAY JE. 2009. Late summer phytoplankton distribution along a 3500 km transect in Canadian Arctic waters: strong numerical dominance by picoeukaryotes. Aquatic Microbial Ecology. 54(1):55-70.

TREMBLAY R, MYRAND B, GUDERLEY H. 1998. Thermal sensitivity of organismal and mitochondrial oxygen consumption in relation to susceptibility of blue mussels, *Mytilus edulis* (L.), to summer mortality. Journal of Shellfish Research. 17(1):141-152.

TREMBLAY R, OLIVIER F, BOURGET E, RITTSCHOF D. 2007. Physiological condition of *Balanus amphitrite* cyprid larvae determines habitat selection success. Marine Ecology Progress Series. 340:1-8.

TROTTET A, ROY S, TAMIGNEAUX E, LOVEJOY C. 2007. Importance of heterotrophic planktonic communities in a mussel culture environment: the Grande Entrée lagoon, Magdalen Islands (Québec, Canada). Marine Biology. 151:377-392.

UTTING SD, MILLICAN PF. 1998. The role of diet in hatchery conditioning of *Pecten maximus* L.: a review. Aquaculture. 165(3-4):167-178.

VAN COLEN C, LENOIR J, DE BACKER A, VANELSLANDER B, VINCX M, DEGRAER S, YSEBAERT T. 2009. Settlement of *Macoma balthica* larvae in response to benthic diatom films. Marine Biology. 156(10):2161-2171.

VAN DE KOPPEL J, GASCOIGNE JC, THERAULAZ G, RIETKERK M, MOOIJ WM, HERMAN PMJ. 2008. Experimental evidence for spatial self-organization and its emergent effects in mussel bed ecosystems. Science. 322(5902):739-742.

VAQUER A, TROUSSELLIER M, COURTIES C, BIBENT B. 1996. Standing stock and dynamics of picophytoplankton in the Thau Lagoon (northwest Mediterranean coast). Limnology and Oceanography. 41(8):1821-1828.

VARGAS CA, ESCRIBANO R, POULET S. 2006. Phytoplankton food quality determines time windows for successful zooplankton reproductive pulses. Ecology. 87(12):2992-2999.

VELOZA AJ, CHU FL, TANG KW. 2006. Trophic modification of essential fatty acids by heterotrophic protists and its effects on the fatty acid composition of the copepod *Acartia tonsa*. Marine Biology. 148(4):779-788.

VENIOT A, BRICELJ VM, BENINGER PG. 2003. Ontogenetic changes in gill morphology and potential significance for food acquisition in the scallop *Placopecten magellanicus*. Marine Biology. 142(1):123-131.

VENTRELLA V, PIRINI M, PAGLIARANI A, TROMBETTI F, MANUZZI MP, BORGATTI AR. 2008. Effect of temporal and geographical factors on fatty acid composition of *M. galloprovincialis* from the Adriatic sea. Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology. 149(2):241-250.

VIDELA JA, CHAPARRO OR, THOMPSON RJ, CONCHA II. 1998. Role of biochemical energy reserves in the metamorphosis and early juvenile development of the oyster *Ostrea chilensis*. Marine Biology. 132(4):635-640.

VIRTUE P, NICHOLS PD, NICOL S, MCMINN A, SIKES EL. 1993. The lipid composition of *Euphausia superba* Dana in relation to the nutritional value of *Phaeocystis pouchettii* (Harriot) Lagerheim. Antarctic Science. 5(2):169-177.

VISO AC, MARTY JC. 1993. Fatty acids from 28 marine microalgae. Phytochemistry. 34(6):1521-1533.

VOLKMAN JK, JEFFREY SW, NICHOLS PD, ROGERS GI, GARLAND CD. 1989. Fatty-acid and lipid-Composition of 10 species of microalgae used in mariculture. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 128(3):219-240.

VON DER MEDEN CEO, PORRI F, MCQUAID CD, FAULKNER K, ROBEY J. 2010. Fine-scale ontogenetic shifts in settlement behaviour of mussels: changing responses to biofilm and conspecific settler presence in *Mytilus galloprovincialis* and *Perna perna*. Marine Ecology Progress Series. 411:161-171.

VOPEL K, REICK CH, ARLT G, POHN M, OTT JA. 2002. Flow microenvironment of two marine peritrich ciliates with ectobiotic chemoautotrophic bacteria. Aquatic Microbial Ecology. 29(1):19-28.

WACKER A, BECHER P, VON ELERT E. 2002. Food quality effects of unsaturated fatty acids on larvae of the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. Limnology and Oceanography. 47(4):1242-1248.

WAHL M. 1989. Marine epibiosis .1. Fouling and antifouling - some basic aspects. Marine Ecology Progress Series. 58(1-2):175-189.

WAITE JH, QIN XX. 2001. Polyphosphoprotein from the adhesive pads of *Mytilus edulis*. Biochemistry. 40(9):2887-2893.

WAITE JH, QIN XX, COYNE KJ. 1998. The peculiar collagens of mussel byssus. Matrix Biology. 17(2):93-106.

WAKEHAM SG. 1995. Lipid biomarkers for heterotrophic alteration of suspended particulate organic matter in oxygenated and anoxic water columns of the ocean. Deep-Sea Research Part I-Oceanographic Research Papers. 42(10):1749-1771.

- WALDOCK MJ, HOLLAND DL. 1978. Fatty acid composition of the triacylglycerols of the cypris larva of the barnacle *Balanus balanoides* during metamorphosis. *Marine Biology*. 46(2):163-166.
- WANG WX, WIDDOWS J. 1991. Physiological responses of mussel larvae *Mytilus edulis* to environmental hypoxia and anoxia. *Marine Ecology Progress Series*. 70:223-236.
- WANG WX, XU ZZ. 1997. Larval swimming and postlarval drifting behavior in the infaunal bivalve *Sinonovacula constricta*. *Marine Ecology Progress Series*. 148(1-3):71-81.
- WANG Y, HAMMES F, BOON N, CHAMI M, EGLI T. 2009. Isolation and characterization of low nucleic acid (LNA)-content bacteria. *Isme Journal*. 3(8):889-902.
- WATSON DI, BARNES DKA. 2004. Temporal and spatial components of variability in benthic recruitment, a 5-year temperate example. *Marine Biology*. 145(1):201-214.
- WEBB JS, CHU FLE. 1983. Phytoplankton as food source for bivalve larvae. *Proceedings of the Proceedings of the Second International Conference on Aquaculture Nutrition: Biochemical and Physiological Approaches to Shellfish Nutrition*; 1983; Louisiana State University, Baton Rouge, LA,; GD Pruder, Langdon CJ, Conklin DE ed.
- WELLS HW, GRAY IE. 1960. The seasonal occurrences of *Mytilus edulis* on the Carolina coast as a result of transport around Cape Hatteras. *Biological Bulletin (Woods Hole)*. 119:550-559.
- WHYTE JNC, BOURNE N, HODGSON CA. 1989. Influence of algal diets on biochemical composition and energy reserves in *Patinopecten yessoensis* (Jay) larvae. *Aquaculture*. 78(3-4):333-347.
- WHYTE JNC, BOURNE N, GINTHER NG. 1991. Depletion of nutrient reserves during embryogenesis in the scallop *Patinopecten yessoensis* (Jay). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 149(1):67-79.
- WIDDOWS J. 1991. Physiological ecology of mussel larvae. *Aquaculture*. 94(2-3):147-163.
- WIECZOREK SK, TODD CD. 1997. Inhibition and facilitation of bryozoan and ascidian settlement by natural multi-species biofilms: Effects of film age and the roles of active and passive larval attachment. *Marine Biology*. 128(3):463-473.

WIECZOREK SK, TODD CD. 1998. Inhibition and facilitation of settlement of epifaunal marine invertebrate larvae by microbial biofilm cues. *Biofouling*. 12(1-3):81-118.

WILSANAND V, WAGH AB, BAPUJI M. 2001. Antifouling activities of octocorals on some marine microfoulers. *Microbios*. 104(409):131-140.

WILSON SE, STEINBERG DK, CHU FLE, BISHOP JKB. 2010. Feeding ecology of mesopelagic zooplankton of the subtropical and subarctic North Pacific Ocean determined with fatty acid biomarkers. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*. 57(10):1278-1294.

WINDER M. 2009. Photosynthetic picoplankton dynamics in Lake Tahoe: temporal and spatial niche partitioning among prokaryotic and eukaryotic cells. *Journal of Plankton Research*. 31(11):1307-1320.

WORDEN AZ. 2006. Picoeukaryote diversity in coastal waters of the Pacific Ocean. *Aquatic Microbial Ecology*. 43(2):165-175.

WORDEN AZ, NOLAN JK, PALENIK B. 2004. Assessing the dynamics and ecology of marine picophytoplankton: the importance of the eukaryotic component. *Limnology and Oceanography*. 49(1):168-179.

WOTTON RS. 2004. The ubiquity and many roles of exopolymers (EPS) in aquatic systems. *Scientia Marina*. 68:13-21.

YANG JL, SATUITO CG, BAO WY, KITAMURA H. 2008. Induction of metamorphosis of pediveliger larvae of the mussel *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 using neuroactive compounds, KCl, NH₄Cl and organic solvents. *Biofouling*. 24(6):461-470.

YANG LH, RUDOLF VHW. 2010. Phenology, ontogeny and the effects of climate change on the timing of species interactions. *Ecology Letters*. 13(1):1-10.

YEAGER MM, CHERRY DS, NEVES RJ. 1994. Feeding and burrowing behaviors of juvenile rainbow mussels, *Villosa iris* (Bivalvia: Unionidae). *Journal of the North American Benthological Society*. 13(2):217-222.

YOUNG CM, GOTELLI NJ. 1988. Larval predation by barnacles: effects on patch colonization in a shallow subtidal community. *Ecology*. 69(3):624-634.

ZAKHARSTEV MV, NAUMENKO NV, CHELOMIN VP. 1998. Non-methylene-interrupted fatty acids in phospholipids of the membranes of the mussel *Crenomytilus grayanus*. Russian Journal of Marine Biology. 24(183).

ZARDUS JD, NEDVED BT, HUANG Y, TRAN C, HADFIELD MG. 2008. Microbial biofilms facilitate adhesion in biofouling invertebrates. Biological Bulletin. 214(1):91-98.

ZHUKOVA NV. 1986. Biosynthesis of non-methylene-interrupted dioenic fatty acids from [^{14}C]acetate in molluscs. Biochimica et Biophysica Acta. 878:131-133.

ZHUKOVA NV. 1991. The pathway of the biosynthesis of non-methylen-interrupted dioenic fatty-acids in mollusks. Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology. 100(4):801-804.

ZHUKOVA NV, SVETASHEV VI. 1986. Non-methylene-interrupted dioenic fatty acids in molluscs from the sea of Japan. Comparative Biochemistry and Physiology Part B Biochemistry & Molecular Biology. 83(3):643-646.

ZHUKOVA NV, KHARLAMENKO VI, SVETASHEV VI, RODIONOV IA. 1992. Fatty-acids as markers of bacterial symbionts of marine bivalve mollusks. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 162(2):253-263.

